

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

NATALINO JÚLIO DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL ENTRE DIFERENTES VACINAS
PARA COVID-19 E CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Alfenas/MG

2025

NATALINO JÚLIO DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL ENTRE DIFERENTES VACINAS
PARA COVID-19 E CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

Defesa de mestrado apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: II - Interação Patógeno Hospedeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Cosme Cotta Malaquias

Coorientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Leomil Coelho

Alfenas/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Carvalho, Natalino Júlio de.

Avaliação da resposta imune humoral entre diferentes vacinas para Covid-19 e correlação com dados clínico-epidemiológicos / Natalino Júlio de Carvalho. - Alfenas, MG, 2025.

122 f. : il. -

Orientador(a): Luiz Cosme Cotta Malaquias.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Covid-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Imunidade Humoral. 4. Vacina. 5. Intervalo de tempo. I. Malaquias, Luiz Cosme Cotta, orient. II. Título.

NATALINO JULIO DE CARVALHO

**AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE HUMORAL ENTRE DIFERENTES VACINAS PARA COVID-19 E
CORRELAÇÃO COM DADOS CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICOS**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Interação Patógeno Hospedeiro.

Aprovada em: 13 de junho de 2025.

Prof. Dr. Luiz Cosme Cotta Malaquias

Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG

Profa. Dra. Raissa Prado Rocha

Instituição: University of Surrey

Profa. Dra. Julianne Grisolia Caravita

Instituição: Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG



Documento assinado eletronicamente por **Luiz Cosme Cotta Malaquias, Presidente**, em 13/06/2025, às 16:04, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1539294** e o código CRC **B6C10D12**.

... Aos meus filhos Guilherme, Duque e Maya pela paciência e apoio durante essa jornada.

... A todas vítimas e respectivos familiares da COVID-19

AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus por ter concedido a mim sabedoria e força de vontade.

Aos meus pais, Salomar e Benedita, *in memorian*, pelo dom da vida.

À minha querida madrinha, Celestina Carolina, *in memorian*, pelo sacrifício e doação durante sua vida para que um dia eu pudesse chegar a esse momento.

Aos Frades da Província Franciscana de Santa Cruz pela formação Humana intelectual que me foi doada durante meu período de seminário.

Ao meu orientador, Professor Doutor Luiz Cosme Cotta Malaquias, motivando-me através de informações preciosas, dedicação, doação, paciência, generosidade e empatia. Possibilitando êxito na conclusão deste trabalho.

Ao meu coorientador, Prof. Dr. Luiz Felipe Leomil Coelho, pela colaboração e auxílio durante o trabalho.

Ao Dr. Edvânio Ramos Rodrigues, da empresa Labormed, pela significativa contribuição com o equipamento e os kits da empresa fabricante Eco Diagnóstica, ferramentas necessárias para a avaliação qualitativa dos anticorpos neutralizantes.

Ao Prof. Dr. Denismar Alves Nogueira pelo comprometimento em fornecer as análises estatísticas solicitadas.

Ao Prof. Dr. Flávio Guimarães da Fonseca, da UFMG e do CT-Vacinas pela disponibilização da técnica do ensaio imunoenzimático (ELISA), pelas proteínas recombinantes N e S do SARS-CoV-2.

À Universidade Federal de Alfenas e à CAPES pelo financiamento da pesquisa.

À Prefeitura de Alfenas, na pessoa do Coordenador de Saúde Bucal Dr. Flávio Alessandro de Oliveira, motivando-me a crescer em minha carreira profissional, permitindo-me afastamento parcial das atividades laborais para participar de todas disciplinas cursadas.

Aos participantes que aceitaram com abnegação participar desta pesquisa e forneceram as amostras para análise. Eterna gratidão.

À coordenação dos docentes do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas pela generosidade em passar conhecimentos e experiência.

Aos colegas do Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas pelo companheirismo.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001

“Não basta a leitura sem a unção, não basta a especulação sem a devoção, não basta a pesquisa sem maravilhar-se; não basta a circunspecção sem o júbilo, o trabalho sem a piedade, a ciência sem a caridade, a inteligência sem a humildade, o estudo sem a graça” (São Boaventura)”.

RESUMO

A imunidade esterilizante para um vírus como o SARS-CoV-2 é difícil de alcançar, mesmo com vacinas. É esperado que a proteção induzida pela vacinação diminua com o tempo. Neste trabalho, avaliou-se a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínicos epidemiológicos. Para avaliação da imunidade humoral foi realizado o teste de ELISA indireto, para detecção de anticorpos contra as proteínas S e N do SARS-CoV-2 e anticorpos neutralizantes por teste rápido fluorescente presentes no soro coletado de 77 participantes. Por meio de um questionário estruturado, foram obtidas informações acerca da idade, gênero, testagem, infecção prévia ao momento da coleta, vacinação (tipo de vacina e regime vacinal) e efeitos adversos. Os resultados mostraram que a média de idade dos participantes foi de 41,62 anos +/- 11,701. Em relação ao gênero, 54 (70,1%) eram mulheres. As plataformas de vacinas utilizadas pelos 77 participantes foram vírus de inativado (Coronavac), tecnologia de RNA mensageiro sintético (Pfizer, monovalente ou bivalente), vacinas de vetores virais (AstraZeneca ou Janssen); com esquema vacinal até o segundo reforço (4ª dose). Foram aplicadas 298 doses (100%), sendo a vacina menos utilizada, a Coronavac, 16 (5,7%), e a mais utilizada a Pfizer, 144 (48,00%). Após a vacinação, 50 (64,9%) participantes relataram efeitos adversos. Em relação à infecção prévia ao momento da coleta, 41 (53,20%) relataram que tiveram COVID-19, enquanto 36 (46,8%) participantes relataram que não tiveram COVID 19. Suspeitando a doença, 62 (80,5%) participantes realizaram testes diagnósticos, sendo que 38 (49,4%) realizaram teste rápido, 22 (26,6%) teste RT-PCR e apenas dois (2,6%) realizaram avaliação clínica. O teste de ELISA indireta para a proteína N resultou 61 (79,2%) participantes positivos, sugerindo a existência de imunidade híbrida. Os testes de ELISA indireta para a proteína S e os rápidos fluorescentes resultaram em 77 (100%) participantes positivos. A resposta imune durou uma média de 9,36 meses no período entre o último reforço e a data da coleta e 23,14 meses no período entre a primeira dose e a data da coleta. Concluímos que todos os participantes apresentam uma resposta imune humoral robusta e duradoura, pois apresentaram no teste de ELISA indireta e teste rápido fluorescente resultado de 100% para anticorpos IgG anti *Spike*, sendo a amostra considerada reagente para anticorpos neutralizantes.

Palavras-chave: COVID-19, imunidade humoral, vacina, tipo/dose, SARS-CoV-2, intervalo de tempo.

ABSTRACT

Sterilizing immunity to a virus like SARS-CoV-2 is difficult to achieve, even with vaccines. The protection induced by vaccination is expected to decrease over time. In this study, we evaluated the humoral immunity induced by different vaccines against SARS-CoV-2 and its association with clinical epidemiological factors. To assess humoral immunity, an indirect ELISA test was carried out to detect antibodies against the S and N proteins of SARS-CoV-2 and neutralizing antibodies by rapid fluorescent test present in the serum collected from 77 participants. Using a structured questionnaire, information was obtained on age, gender, testing, previous infection at the time of collection, vaccination (type of vaccine and vaccination regimen) and adverse effects.. The results showed that the average age of the participants was 41.62 years +/- 11.701. Regarding gender, 54 (70.1%) were women. The vaccine platforms used by the 77 participants were inactivated virus (Coronavac), synthetic messenger RNA technology (Pfizer, monovalent or bivalent), viral vector vaccines (AstraZeneca or Janssen); with a vaccination schedule up to the second booster (4th dose). A total of 298 doses were administered (100%), with the least used vaccine being Coronavac, 16 (5.7%), and the most used being Pfizer, 144 (48.00%). After vaccination, 50 (64.9%) participants reported adverse effects. Regarding previous infection at the time of collection, 41 (53.20%) reported having had COVID-19, while 36 (46.8%) participants reported not having had COVID-19. When the disease was suspected, 62 (80.5%) participants underwent diagnostic tests, of which 38 (49.4%) underwent a rapid test, 22 (26.6%) an RT-PCR test and only 2 (2.6%) a clinical evaluation. The indirect ELISA test for protein N resulted in 61 (79.2%) positive participants, suggesting the existence of hybrid immunity. The indirect ELISA tests for protein S and the rapid fluorescent tests resulted in 77 (100%) positive participants. The immune response lasted an average of 9.36 months between the last booster and the date of collection and 23.14 months between the first dose and the date of collection. We conclude that all participants have a robust and long-lasting humoral immune response, since they showed a 100% result for IgG anti *Spike* antibodies in the indirect ELISA and fluorescent rapid test, with the sample being considered reactive for neutralizing antibodies.

Keywords: COVID-19, humoral immunity, Vaccine, Type/dose, SARS-CoV-2, Time interval

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Fotografias de microscopia eletrônica de coronavírus humanos....	19
Figura 2 –	Estrutura SARS-CoV-2.....	22
Figura 3 –	Genoma do SARS-CoV-2.....	22
Figura 4 –	Replicação viral.....	23
Figura 5 –	Adentramento do SARS CoV-2 na célula hospedeira.....	25
Figura 6 –	Adentramento do SARS CoV-2 na célula hospedeira.....	26
Figura 7 –	Ordem cronológica de surgimento das principais variantes do SARS CoV-2.....	29
Figura 8 –	Diagnóstico diferencial COVID-19/Gripe.....	42
Figura 9 –	Métodos de medição de carga viral e vírus infecciosos e RNA.....	43
Figura 10 –	ELISA indireto.....	53
Figura 11 –	Mecanismo de imunidade humoral produzida por infecção natural ou vacina.....	63
Figura 12 –	Vacinas e respectivas plataformas aprovadas no Brasil.....	75
Figura 13 –	Distribuição da frequência relativa dos participantes quanto ao gênero.....	88
Figura 14 –	Distribuição das vacinas aplicadas em cada dose.....	89
Figura 15 –	Número total de doses de vacinas aplicadas.....	90
Figura 16 –	Distribuição da frequência relativa de efeitos adversos à vacinação.....	90
Figura 17 –	Distribuição dos efeitos adversos em relação ao gênero.....	91
Figura 18 –	Distribuição da frequência relativa do número de casos de infecção por COVID-19 informada pelos participantes.....	92
Figura 19 –	Distribuição da frequência das respostas em relação ao tipo de teste que foi realizado para detecção da COVID-19.....	92
Figura 20 –	Resultado do teste ELISA para proteína N.....	93
Figura 21 –	Resultado do teste ELISA para proteína S.....	95
Figura 22 –	Resultado do teste rápido fluorescente utilizado para medir qualitativamente os anticorpos neutralizantes circulantes contra o SARS-CoV-2.....	95

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 –	Variantes que mais preocupam a OMS devido ao efeito significativo que a propagação destas variantes tem trazido à saúde pública.....	31
Quadro 2 –	Variantes de interesse (VOIs) atualmente em circulação.....	32
Quadro 3 –	Variantes atualmente em circulação sob monitoramento (VUMs).....	32
Quadro 4 –	Níveis de agravamento da COVID 19.....	36
Quadro 5 –	Interpretação prática de exames moleculares e sorológicos com sintomas relacionados e significado.....	37
Quadro 6 –	Principais métodos de diagnósticos da COVID 19.....	39
Quadro 7 –	Principais plataformas utilizadas para produção de vacinas.....	69
Quadro 8 –	Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vacinas de RNA mensageiro (RNAm) ...	71
Quadro 9 –	Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vetor viral.....	72
Quadro 10 –	Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vacinas inativadas.....	73
Quadro 11 –	Plataformas menos usuais das vacinas candidatas contra a COVID-19.....	74
Quadro 12-	Doses de vacinas monovalente e bivalentes aplicadas no Brasil..	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Dados demográficos atualizados da COVID 19 no Brasil.....	33
Tabela 2 –	Correlação dos resultados do teste ELISA para proteína N com as respostas dos participantes quanto à infecção prévia com COVID-19.....	94
Tabela 3 –	Duração da resposta imune.....	96

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE-2	<i>Angiotensin Converting Enzyme 2</i> (Enzima Conversora de Angiotensina 2)
BCR	Receptor de célula B
CLIA	<i>Chemiluminescent Immunoassay</i> (Imunoensaio Quimioluminescente)
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio da Imunoabsorção Enzimática)
HCoV	<i>Human Coronavirus</i> (Coronavírus Humano)
HD	Hemodiálise
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
LFIA	<i>Lateral Flow Immunoassay</i> (Imunoensaio de Fluxo Lateral)
MERS-CoV	<i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i> (Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio)
mRNA	<i>Messenger Ribonucleic Acid</i> (Ácido Ribonucleico Mensageiro)
NSP	<i>Non-Structural Protein</i> (Proteína Não Estrutural)
OMS	Organização Mundial de Saúde
ORF	<i>Open Reading Frame</i> (Regiões Abertas de Leitura)
PBS	<i>Phosphate-buffered saline</i> (Tampão fosfato-salino)
PBS-T	<i>Phosphate-buffered saline - Tween</i> (Tampão fosfato-salino – Tween)
PP	Poliproteínas
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i> (Receptor de reconhecimento padrão)
RBD	<i>Receptor Binding Domain</i> (Domínio de Ligação do Receptor)
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> (Ácido ribonucleico)
RT-PCR	<i>Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i> (Reação em cadeia da Polimerase – transcriptase reversa)
SARS-CoV	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus</i> (Coronavírus relacionado à síndrome respiratória aguda grave)
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2</i> (Coronavírus 2 relacionado à síndrome respiratória aguda grave)

SG	Síndrome Gripal
SnRNAs	RNA não codificante
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TCID	Dose infecciosa de cultura de tecido
TCR	<i>T Cell Receptor</i> (Receptor de célula T)
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UNIFAL-MG	Universidade Federal de Alfenas
USP	Universidade de São Paulo
UTI	Unidade de Tratamento Intensivo
VA	Variante de alerta
VOC	<i>Concern Variants</i> (Variantes de Preocupação)
VPP	Valor preditivo positivo
VUM	<i>Variants under Monitoring</i> (Variante sob monitoramento)
VOI	<i>Variants of Interest</i> (Variantes de Interesse)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	O NOVO CORONAVÍRUS - SARS-COV-2	19
2.2	VARIANTES	26
2.3	COVID-19.....	33
2.4	RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA	55
2.5	VACINAS.....	65
3	OBJETIVOS	82
3.1	OBJETIVO GERAL	82
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	82
4	METODOLOGIA	83
4.1	AMOSTRAGEM	83
4.2	ASPECTOS ÉTICOS.....	84
4.3	ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)	84
4.4	AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES POR TESTE RÁPIDO	86
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	87
5	RESULTADOS	88
6	DISCUSSÃO	97
7	CONCLUSÃO	108
	REFERÊNCIAS	109
	ANEXO I: TERMO DE APROVAÇÃO DO CÔMITE DE ÉTICA	117
	ANEXO II: QUESTIONÁRIO	121

1 INTRODUÇÃO

A doença COVID-19 tem como agente etiológico o vírus SARS-CoV-2, responsável pela pandemia enfrentada pelo mundo desde o ano de 2020. Este vírus despertou grande temor, tendo em vista sua gravidade e sua alta infecciosidade principalmente pela via respiratória, demonstrando, dessa forma, a necessidade de investigar sua origem e suas características (Nogueira, 2020).

Segundo a Organização Pan-Americana de saúde (OPAS, 2020), as primeiras manifestações foram registradas em dezembro de 2019 na Ásia Ocidental. Essas ocorrências, de forma específica, estavam diretamente associadas a pacientes que circulavam pelo mercado atacadista de frutos do mar de Huanan em Wuhan, província de Hubei, na China.

Não obstante, foram identificados novos casos com recorrência, iniciando o surto de coronavírus na China, os primeiros casos confirmados em laboratório. Isto provocou o início dos estudos, permitindo sinalizar como fator de risco para o agravamento do estado de saúde a presença de doenças subjacentes e alertar acerca da rápida disseminação (Estellita *et al.*, 2020).

No final de janeiro 2020, 7.734 casos foram confirmados na China e 90 outros casos também foram relatados por diversos países, incluindo Taiwan, Tailândia, Vietnã, Malásia, Nepal, Sri Lanka, Camboja, Japão, Cingapura, República da Coreia, Emirados Árabes Unidos, Estados Unidos, Filipinas, Índia, Austrália, Canadá, Finlândia, França e Alemanha. Além disso, a taxa de letalidade dos casos foi calculada em 2,2% (Rothan; Byrareddy, 2020).

No Brasil, os primeiros casos foram notificados em fevereiro de 2020 e o primeiro óbito ocorreu em 17 de março. A partir disso, a COVID-19 se espalhou por todo o território brasileiro e, cerca de dois meses após a primeira fatalidade, foram registrados mais de nove mil óbitos, os quais correspondem a pessoas que tiveram o diagnóstico positivo confirmado através da detecção do material genético do vírus por PCR (teste de reação em cadeia de polimerase) (França *et al.*, 2020).

Diante disso, desde 11 de março de 2020 dia em que o mundo já tinha mais de 118 mil infecções com 4.291 mortes, a maioria na China, onde a doença surgiu; a COVID-19 estava presente em 114 países, a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou que o mundo vivia a pandemia de Coronavírus 2019 (do inglês: Coronavírus Disease 2019; COVID-19) (OPAS, 2020); Nações Unidas (ONU 2020) pelo seu

diretor-geral Tedros Ghebreyesus, em Genebra. Sendo que o termo pandemia se refere à disseminação mundial de uma doença e é adotado quando uma epidemia se espalha pelos continentes através da transmissão de indivíduo para indivíduo (Schueler, 2021).

Assim, instalou-se um quadro sanitário sem precedentes nos últimos cem anos e o aumento alarmante do número de casos confirmados e de mortes desencadeou crises que impactaram diretamente a sociedade, a economia, a cultura e a política, tanto em países subdesenvolvidos quanto desenvolvidos (Brito *et al.*, 2020).

Diante desse cenário, tornou-se imprescindível o desenvolvimento de vacinas capazes de induzir eficientemente os mecanismos imunológicos que promovessem a proteção contra esse vírus. Uma vez que, através da vacinação, é possível diminuir ou mesmo eliminar a chance de uma pessoa transmitir a doença para outra não vacinada, ou mesmo não se infectar, atingindo, portanto, o objetivo de um programa de imunização, que é englobar o coletivo (Silva, 2018).

A vacinação é um processo de administração de vacinas, que são substâncias criadas para estimular o sistema imunológico a produzir uma resposta de defesa contra determinadas doenças. A vacinação é uma das intervenções mais eficazes e bem sucedidas da medicina moderna, tendo contribuído significativamente para a prevenção e erradicação de várias doenças (Silva, 2023a).

Quando uma pessoa é vacinada, uma versão enfraquecida, inativada ou fragmentos de um agente patogênico específico são introduzidos no corpo. Isso desencadeia uma resposta do sistema imunológico, que produz anticorpos e células de memória para combater o agente patogênico real, caso a pessoa seja exposta a ele no futuro (Silva, 2023a).

Dessa forma, a vacinação ajuda a proteger o indivíduo vacinado contra a doença e também contribui para a proteção coletiva, reduzindo a disseminação da doença na comunidade. A vacinação é, geralmente, recomendada para todas as faixas etárias, desde o nascimento até a idade adulta. Existem programas de imunização estabelecidos pelos governos em muitos países, nos quais determinadas vacinas são fornecidas gratuitamente para a população (Silva, 2023a).

No entanto, é necessário saber a eficácia da vacinação, ou seja, a avaliação da imunidade é crucial para determinar a eficácia das vacinas para COVID-19. Esses estudos permitem monitorizar a resposta imunológica induzida pelas vacinas e avaliar se elas são capazes de fornecer proteção adequada contra o vírus (Silva, 2023a).

A eficácia da vacina é genericamente definida como a redução proporcional causada pela vacinação na probabilidade de que uma única exposição cause uma infecção, e sua estimativa ocorre quando compara-se a taxa de ocorrência de infecção em vacinados com a taxa de infecções (não revolucionárias) em indivíduos não vacinados, verificando que, exceto seu *status* de vacinação, são semelhantes às vacinadas, sendo que quando uma população atinge um nível suficientemente alto de cobertura vacinal a maioria das infecções ocorrerá em pessoas vacinadas, simplesmente porque essa maioria está vacinada; porém, para um vírus como o Coronavírus 2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV-2), a imunidade esterilizante é difícil de alcançar, mesmo com vacinas, e espera-se que a proteção diminua com o tempo desde a vacinação (Lipsitch *et al.*, 2022).

Neste sentido, são necessários estudos longitudinais para fornecer informações em relação ao tempo em que a proteção imunológica dura após a infecção ou vacinação e se são necessárias doses adicionais (Silva, 2023a).

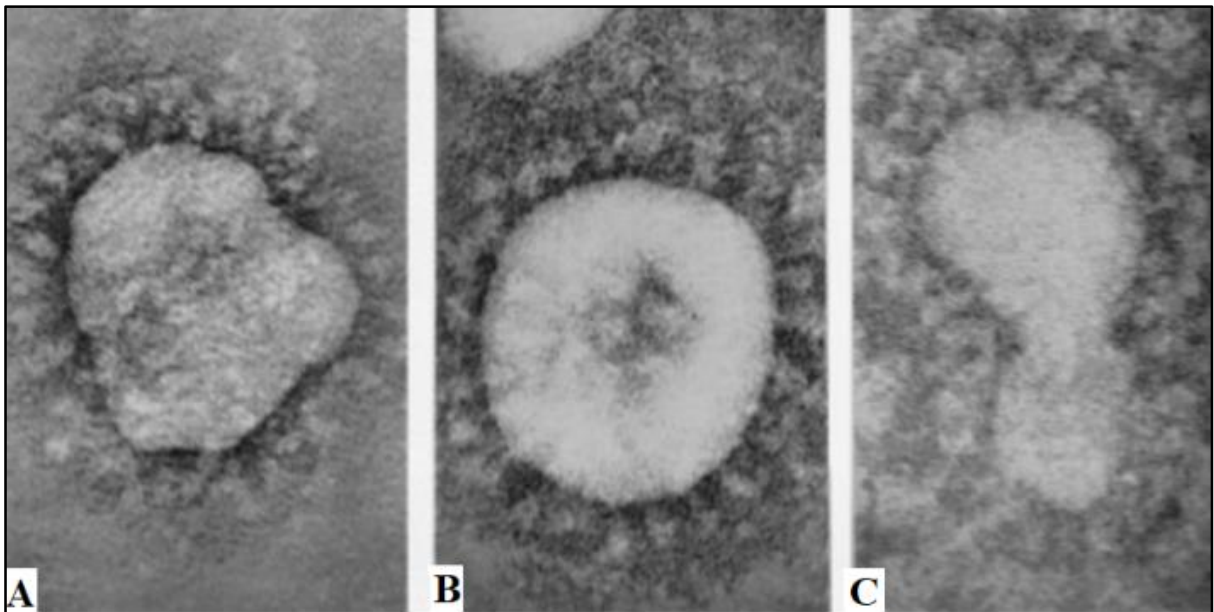
Isto posto, o presente trabalho pretendeu averiguar e avaliar a presença de imunidade humoral específica, ou seja, presença de anticorpos, em indivíduos vacinados contra COVID-19, comparando diferentes vacinas e regimes de vacinação e dados clínico-epidemiológicos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 O NOVO CORONAVÍRUS - SARS-COV-2

Em 1968, o conjunto de vírus que inclui o vírus da bronquite infecciosa aviária, o vírus 229E (humano), o vírus B814 (humano) e o vírus da hepatite murina, recebeu a designação de coronavírus por um grupo de virologistas, devido à semelhança existente entre a morfologia das partículas virais quando visualizadas por microscopia eletrônica e a coroa solar, daí a escolha do termo latino *corona* que significa coroa para se referirem a esses vírus. Essa morfologia característica dos coronavírus é resultado das projeções da glicoproteína *Spike* através do envelope viral (Henry, 2020 *apud* Cordeiro, 2021) (Figura 1).

Figura 1 – Fotografias de microscopia eletrônica de coronavírus humanos



Fonte: A - 229E; B - B814; C - B814, adaptado de Lalchandama (2020 *apud* Cordeiro, 2021).

Em novembro de 2002, ocorreram vários surtos na China de uma doença que se manifestava inicialmente com sintomas respiratórios leves e febre alta, mas que rapidamente evoluía para uma pneumonia atípica, que foi designada *Severe Acute Respiratory Syndrome* (SARS) tornando-se epidemia, pois no final de fevereiro de 2003, a SARS já se havia espalhado para outros países (Cordeiro, 2021).

Em 2012, ocorreu um novo surto por coronavírus no Médio Oriente e o agente etiológico foi o sexto coronavírus identificado em humanos, tendo sido denominado temporariamente de *Human Coronavirus Erasmus Medical Center* (HCoV-EMC), até receber a designação definitiva de *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV), com espectro clínico muito amplo, podendo variar de infecção assintomática a letal, sendo que os quadros clínicos mais graves estão geralmente associados a pacientes de idade mais avançada, imunodeprimidos ou que apresentem patologias crónicas (Cordeiro, 2021).

Em dezembro de 2019, a China reportou à OMS um *cluster* de pneumonia de etiologia desconhecida em trabalhadores e frequentadores do mercado de peixe, mariscos vivos e aves, na cidade de Wuhan, província de Hubei, na China. Em 7 de janeiro de 2020, as autoridades chinesas identificaram um novo coronavírus denominado SARS-CoV-2, com origem zoonótica, como o agente causador de COVID-19. Em 11 de março de 2020, foi declarada pela OMS como pandemia internacional (OPAS, 2020).

Os coronavírus (CoVs), responsáveis por causar doenças respiratórias, gastrointestinais e neurológicas, representam uma subfamília de vírus grandes e envelopados em formato esférico, podendo ser visualizados como círculos com espículas em seu envoltório, que criam projeções semelhantes a uma coroa, justificando a origem do seu nome, *corona* (coroa em latim). Entretanto, apesar de apenas os gêneros alfa e beta coronavírus infectarem humanos, existem aqueles que podem ser classificados também como gama e delta, que infectam espécies aviárias (Lima *et al.*, 2020).

A estirpe SARS-CoV-2, pertence ao domínio *Riboviria*, à ordem *Nidovirales*, à subordem *Cornidovirineae*, à família *Coronaviridae*, à subfamília *Orthocoronavirinae*, ao gênero *Betacoronavirus*, ao subgênero *Sarbecovirus* e à espécie *Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus* (*Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, 2020) sendo uma das sete estirpes de Coronavírus conhecidas (Cordeiro, 2021).

Etimologicamente *Nidovirales* vem do latim: *nidos*, ninho e *virales*, relativo a vírus enquanto o nome desta grande família de vírus: Coronavírus (CoVs), se deve a presença de espículas (estruturas proeminentes) que são visualizadas à microscopia eletrônica, dando uma aparência de coroa solar (*corona* em latim), nome dado ao

envoltório luminoso que é formado ao redor do sol durante os eclipses solares (Silva *et al.*, 2021)

São do mesmo subgênero de outros dois coronavírus que desencadearam surtos epidêmicos em grande escala em humanos, o vírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV; novembro 2002), vírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV; abril 2012) (Silva, 2023)

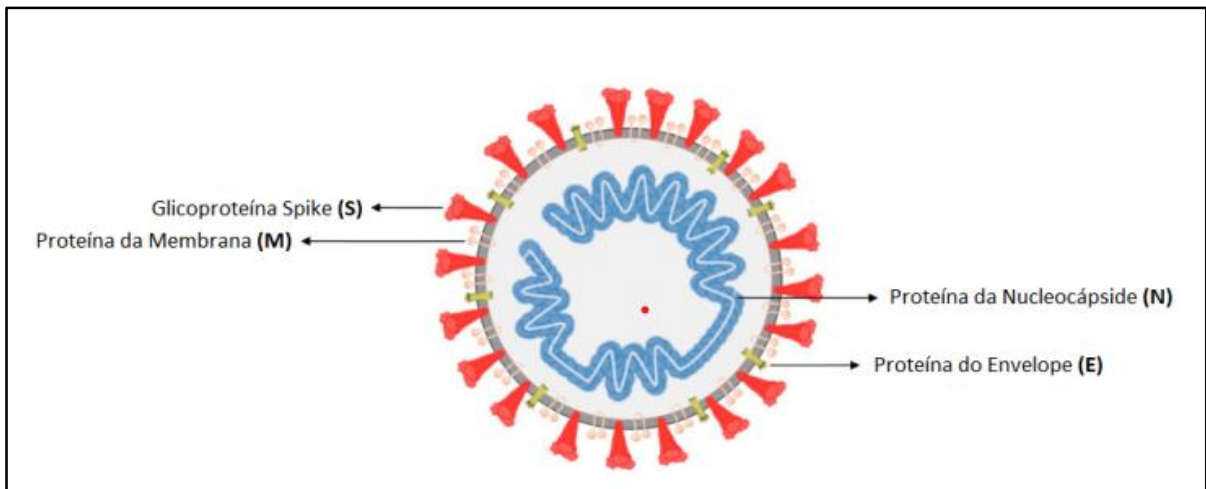
Sendo que esses três coronavírus estão na lista da OMS, para agentes patogênicos prioritários para pesquisa devido ao seu potencial epidêmico e a falta de tratamentos eficazes tendo sido incluídos na lista “Doença X” indicadora de um patógeno desconhecido que pode causar uma grave epidemia internacional, sendo que a atual consta de Covid-19, febre hemorrágica da Crimeia-Congo, doença do vírus Ebola e doença do vírus Marburg (Silva, 2023); Nações Unidas (ONU, 2022).

O SARS-CoV-2 tem como hospedeiro natural o morcego, no entanto, a chance de transmissão deste para humanos seria um evento raro devido ausência de hospedeiros intermediários, e no entanto, análises homológicas, demonstraram que o SARS-CoV-2 apresenta uma similaridade de 99% com uma estirpe isolada de pangolins e que pode ter sido originado por fenômenos de recombinação genética entre o Pangolim-CoV-like vírus e o Bat-CoV-RaTG13-like vírus, o que aponta o pangolim como provável hospedeiro intermediário (Cordeiro, 2021).

O vírus SARS-CoV-2 é constituído por uma membrana viral, uma cadeia simples de RNA e quatro proteínas estruturais, denominadas proteína E (do inglês *Envelope*), proteína M (do inglês *Membrane*), proteína N (do inglês *Nucleocapside*) e proteína S (do inglês *Spike*), além de várias outras proteínas codificadas no RNA. A proteína N protege o material genético e as três proteínas, S, M, E, estruturam o envelope viral (Pinto *et al.*, 2020), sendo então o seu genoma dividido em várias *Open Reading Frames* (ORF), que originam essas proteínas estruturais e as proteínas não estruturais que surgem das ORF1a e ORF1b (Silva, 2023) (Figura 2 e 3).

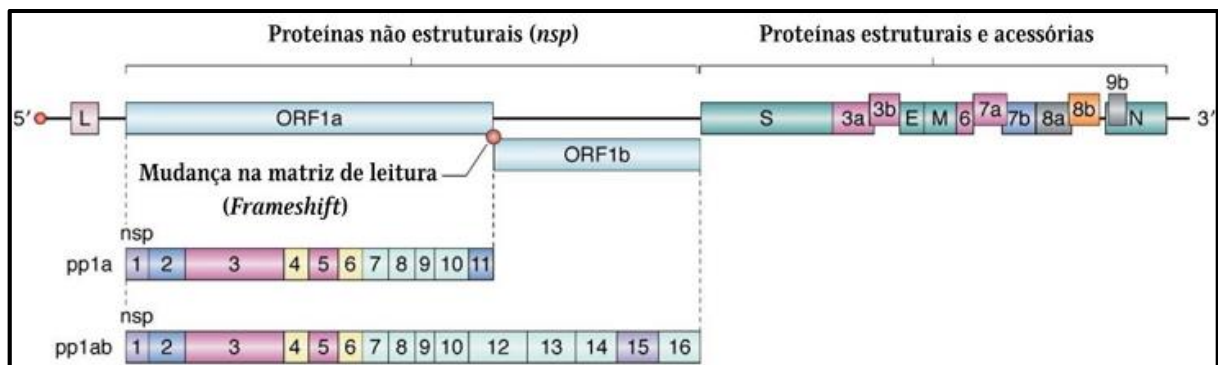
Apresentam em seu material genético um RNA de fita simples, grande e senso positivo com uma capa 5' e uma cauda poli A na extremidade 3' (Lima *et al.*, 2020; Schmidt, 2023), se caracterizam por serem envelopados, com a partícula viral possuindo diâmetro de 80 a 180 nm e o genoma possuindo aproximadamente 26 a 32 quilobases sendo o maior genoma conhecido em vírus de RNA (Oliveira, 2022) (Figura 3).

Figura 2 – Estrutura do SARS-CoV-2



Fonte: adaptado de Taleghani; Taghipour (2021 *apud* Cordeiro, 2021).

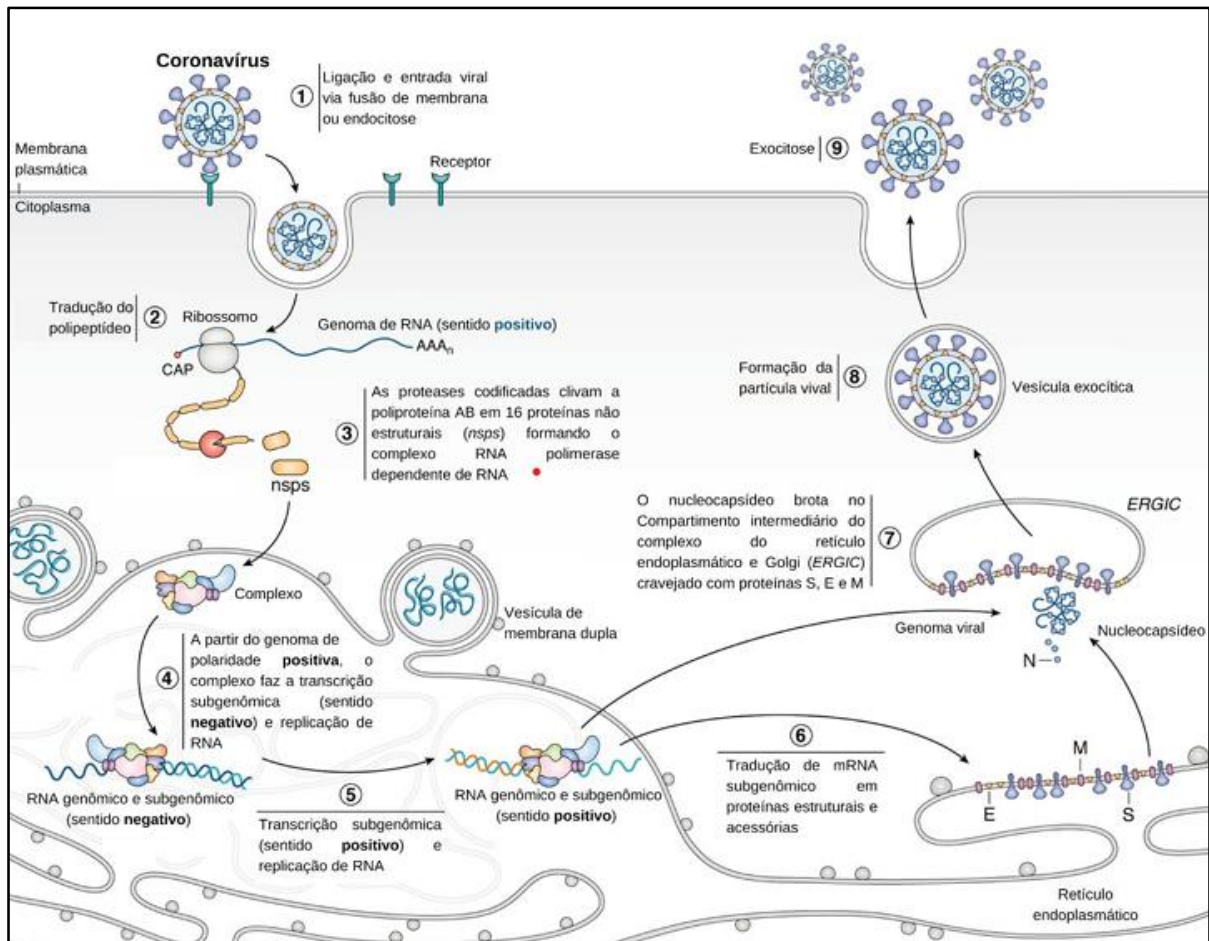
Figura 3 – Genoma do SARS-CoV-2



Fonte: adaptado de Hartenian *et al.* (2020 *apud* Oliveira, 2022).

As proteínas estruturais, presentes no final da terceira parte do genoma iniciando pela proteína *Spike* (S), depois proteína de envelope (E), proteína de matriz (M) e proteína do nucleocapsídeo (N) são produzidas através da transcrição e tradução dos ácidos ribonucleicos (RNAs) mensageiros sub-genômicos, que surgiram por complementaridade com a cadeia de RNA original. Por sua vez, as proteínas não estruturais advêm do RNA genômico, que após a entrada na célula hospedeira é traduzido na poliproteína 1ab, que após ser clivada por proteases virais (nsp3 e nsp5) dá, então, origem a 16 proteínas não estruturais com diversas funções, sendo que todas estão envolvidas mais ou menos diretamente no processo de replicação viral (Silva, 2023) (Figura 4).

Figura 4 – Replicação viral



Fonte: Adaptada de Hartenian *et al.* (2020 *apud* Oliveira, 2022).

Sendo que a proteína de nucleocapsídeo do coronavírus (proteína N) é uma proteína estrutural com aproximadamente 90% de similaridade com a sequência de aminoácidos da proteína N do SARS-CoV. O nucleocapsídeo protege o genoma e garante sua replicação e transmissão, forma complexos com o RNA genômico, interage com a proteína da membrana viral durante a montagem do vírion e desempenha um papel crítico no aumento da eficiência da transcrição e montagem do vírus sendo assim uma proteína multifuncional e suas funções incluem replicação e transcrição do RNA viral, formação e manutenção do complexo ribonucleoproteína (RNP), no ciclo celular do hospedeiro, incluindo apoptose, para facilitar a multiplicação e disseminação do vírus, montagem da proteína viral, na patogênese viral e imunogenicidade e causando uma resposta de anticorpos dominada pela imunoglobulina G (IgG), altamente restrita, que é direcionada mais frequentemente e predominantemente ao nucleocapsídeo (Silva, 2021).

Todas essas características tornam a proteína N forte candidata para uso em projetos de ferramentas de diagnóstico dos coronavírus e a compreensão do seu papel na infecção pelo coronavírus pode oferecer uma visão sobre o desenvolvimento de novas ferramentas antivirais que visam às interações entre as proteínas da célula do hospedeiro e as proteínas virais que podem ser potencialmente usadas para combater a ameaça representada pelo novo coronavírus (Silva, 2021).

A proteína N é detectada em situações de infecção, uma vez que a maioria das vacinas não inclui este alvo (Guiomar *et al.*, 2022 *apud* Silva, 2023), pois além de estar associada ao RNA genômico que forma o nucleocapsídeo, a proteína N está envolvida na síntese e tradução do RNA e atua como antagonista do interferon e supressor de interferência do RNA, o que favorece a replicação viral (Miranda, 2022). A ampla utilização de vacinas contra a COVID-19 (por exemplo, Pfizer, AstraZeneca e Moderna), que estimulam apenas a produção de anticorpos anti-S, significa que pode distinguir os anticorpos provenientes de infecções naturais daqueles derivados da vacinação quando se mede os dois tipos de anticorpos anti-N e anticorpos anti-S (Wadhwa *et al.*, 2021; Silva, 2023).

A proteína E é essencial para a montagem de partículas e morfogênese, sendo encontrada em diferentes concentrações. Também tem uma função pró-apoptótica. (Modrow *et al.*, 2013; Oliveira, 2022).

A proteína M faz parte da superfície e possui massa molecular de 20 a 30 kDa. Possui três domínios transmembranares, mas apenas algumas regiões amino terminais são expostas na superfície viral. A interação com a proteína N do nucleocapsídeo é feita pelo terminal carboxi que se encontra na parte interna da partícula viral. E durante todo o ciclo de replicação viral, a proteína de matriz permanece na membrana do retículo endoplasmático (Oliveira, 2022).

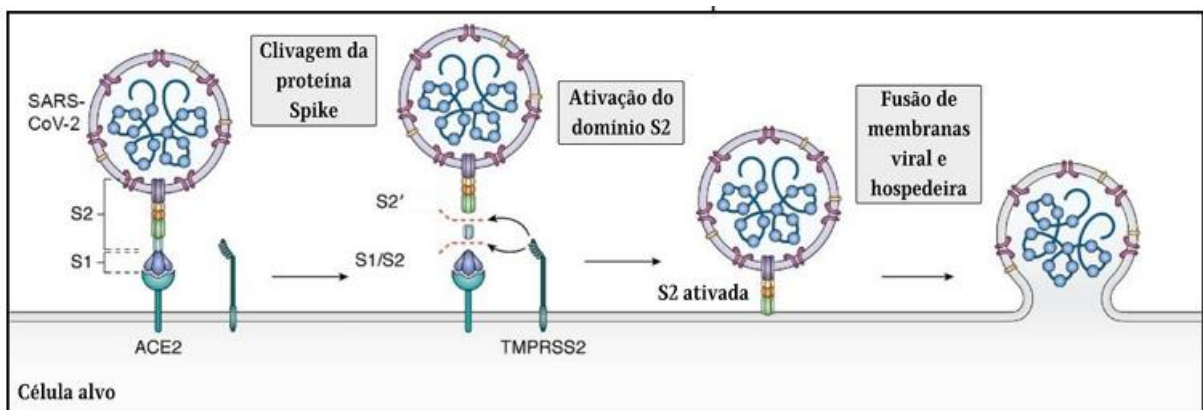
A proteína S possui massa molecular de 180-200 kDa, é glicosilada e ancorada no envelope viral. Ela confere atividade fusogênica ao vírus que se funde à membrana citoplasmática pelo receptor ACE-2 (enzima conversora de angiotensina 2) e induz a fusão das membranas de células infectadas e não infectadas para formar policariócitos, porém o mecanismo molecular de fusão da membrana em coronavírus não foi revelado de forma conclusiva (Oliveira, 2022) e o vírus pode adentrar a célula através da fusão à membrana, por meio da fusão da proteína S ao receptor ACE-2 por endocitose (Silva, 2023).

O SARS-CoV-2 para conseguir entrar nas células do hospedeiro precisa ligar-se ao receptor ACE2, com isso apresenta tropismo celular para células que apresentam este receptor, ou seja, células da gama ACE2 que estão presentes em células endoteliais de artérias e veias, enterócitos, células renais, células epiteliais do trato respiratório e ainda células dendríticas, monócitos e macrófagos alveolares (Oliveira, 2022; Cordeiro, 2021; Silva, 2023).

A proteína S liga-se ao receptor ACE2 da célula hospedeira sendo clivada pela Furina nos locais S1/S2 e em seguida S2 é ativada pela protease TMPRSS2. O domínio S2 ativado conduz a fusão proteína *Spike* e receptor ACE2 na membrana celular do hospedeiro ocorrendo o adentramento do SARS-CoV-2 na célula hospedeira (Oliveira, 2022; Cordeiro, 2021; Silva, 2023) (Figuras 5 e 6); diferente do mecanismo de infecção pelo SARS-CoV, que não apresenta o local de clivagem S1/S2 e a sua ativação depende apenas da TMPRSS2 (Hoffmann *et al.*, 2020).

Ocorrendo o processo de fusão do invólucro viral com a membrana celular e endocitose é possível iniciar o ciclo replicativo do vírus, pois uma vez introduzido no interior da célula, essa entende o RNA viral como próprio e produz milhões de cópias a partir das quais produz proteínas virais (Silva, 2023).

Figura 5 – Adentramento do SARS-COV-2 na célula hospedeira

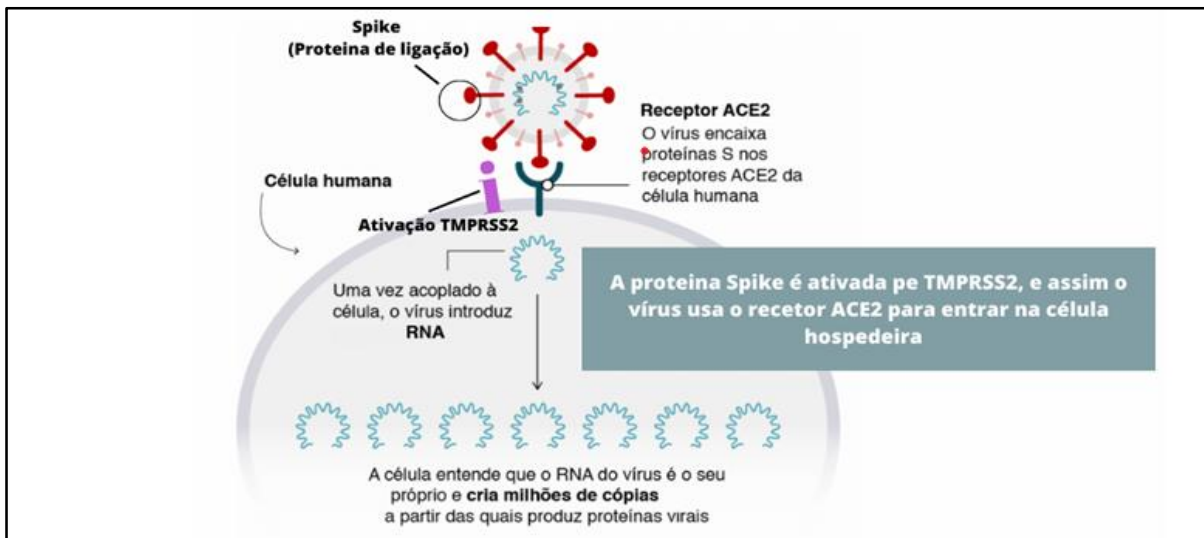


Fonte: adaptado de Hartenian *et al.* (2020 *apud* Oliveira, 2022).

A diminuição da expressão de receptores ACE2 nas membranas citoplasmáticas, resulta no aumento dos níveis de angiotensina-2, que consiste em um mediador inflamatório que provoca a expressão de várias citocinas inflamatórias, situação essa que pode originar um processo inflamatório nos órgãos mais suscetíveis à infecção pelo coronavírus e que poderia desta forma, explicar a inflamação e/ou

fibrose pulmonar, que se pode manifestar num quadro clínico de SARS, assim como esclarecer muitos outros sintomas da COVID-19, sendo que o período de incubação é em torno de 5,1 dias e na maioria dos infectados que venham a revelar-se como casos sintomáticos, as manifestações clínicas surgirão nos doze dias após a exposição ao vírus (Cordeiro, 2021).

Figura 6 – Adentramento do SARS-COV-2 na célula hospedeira



Fonte: Silva (2023).

2.2 VARIANTES

À medida que o novo coronavírus (SARS-CoV-2) se multiplica, sofrem frequentes mutações. Embora a maioria não tenha utilidade para a sobrevivência do vírus, ou mesmo seja deletéria para ele, algumas delas são favoráveis e permitem que ele aumente sua capacidade de entrar nas células e dessa forma aumentando, assim; sua infectividade, e evasão ou escape de anticorpos desenvolvidos pelo organismo em resposta a infecções prévias e de resistência à ação de medicamentos antivirais (Nishioka, 2023).

Mutações são erros que acontecem na hora da replicação de um vírus, por exemplo, que leva a alterações em suas proteínas. Quando a mutação é favorável, ela rapidamente torna-se presente na maioria dos vírus circulantes. O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA e, como tal, tem grande tendência a sofrer mutações, que levam a alterações de proteínas virais, e com isso ao surgimento de novas variantes do vírus (Palmeira, 2024; Li *et al.*, 2021).

De grande importância é a diferenciação entre linhagem e variante, uma vez que linhagens consistem de mutações pontuais ao longo do genoma, que são compartilhadas por vários vírus e são consideradas como assinaturas genéticas. Já foram descritas mais de 2.500 linhagens do SARS-CoV-2. Entretanto, nem todas essas linhagens tiveram sucesso evolutivo. Nem todas conseguiram se dispersar por diferentes localidades ou diferentes países, e muitas delas já deixaram de circular, segundo a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz, 2023).

Porém, entre essas linhagens, algumas delas se destacam epidemiologicamente, pelo número de casos ou por terem mutações importantes ao longo do genoma. Para essas linhagens que se destacam, a Organização Mundial da Saúde (OMS) determinou um sistema de classificação de variantes, que são identificadas por letras gregas (Fiocruz, 2023).

Desde o início da pandemia pelo SARS-Cov-2 no final de 2019, novas variantes do vírus originado em Wuhan têm sido descritas em vários locais pelo mundo. Pesquisas têm sido realizadas com o intuito de determinar se essas variantes vêm tornando-se mais infecciosas, ou são capazes de causar infecções mais graves, ou se conseguem escapar do sistema imune (Palmeira, 2024; Li *et al.*, 2021).

Sendo assim, os vírus que desenvolvem diversas mutações que os tornam de maior infectividade e capacidade de evasão a anticorpos vêm sendo acompanhados ao longo da pandemia, sendo classificados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como variantes de preocupação (*variants of concern*, VOC), variantes de interesse (*variants of interest*, VOI) ou variantes sob monitoramento (*variants under monitoring*, VUM (Nishioka, 2023).

Variantes de Interesse (do inglês VOIs), são variantes do SARS-CoV-2 com modificações genéticas que se saiba ou se possa prever que afetem características do vírus como transmissibilidade, virulência, evasão a anticorpos, suscetibilidade a medicamentos, e detectabilidade (por teste de laboratório), e que se identifique como tendo vantagens de crescimento sobre outras variantes circulantes em mais de uma região do mundo (de acordo com a divisão da OMS), com prevalência relativa e número de casos crescentes ao longo do tempo, ou outros impactos epidemiológicos aparentes que sugiram risco emergente para a saúde pública global (Nishioka 2023; OMS, 2023 ; OMS, 2024).

Variantes de Preocupação (do inglês VOCs), quando comparada com outras variantes, deve apresentar pelo menos um dos critérios seguintes, quando comparada

com outras variantes: a) mudança para pior na gravidade da doença clínica; b) mudança na epidemiologia da COVID-19 que cause impacto substancial na capacidade de sistemas de saúde de prestar cuidados a pacientes com COVID-19 ou outras doenças e, assim, requerer grandes intervenções de saúde; e c) diminuição importante da efetividade das vacinas disponíveis de proteção contra formas graves de COVID-19 (Nishioka, 2023; OMS, 2023 ; OMS, 2024).

Variantes de Alerta (VA) ou sob monitoramento: Uma variante do SARS-CoV-2 com alterações genéticas que suspeita-se afetarem as características do vírus e os sinais precoces de vantagem de crescimento em relação a outras variantes em circulação (por exemplo, vantagem de crescimento que pode ocorrer globalmente ou apenas numa região da OMS), mas para a qual a evidência de impacto fenotípico ou epidemiológico permanece pouco clara, exigindo uma monitorização e reavaliação reforçadas enquanto se aguardam novas evidências (OMS, 2023 ; OMS, 2024)

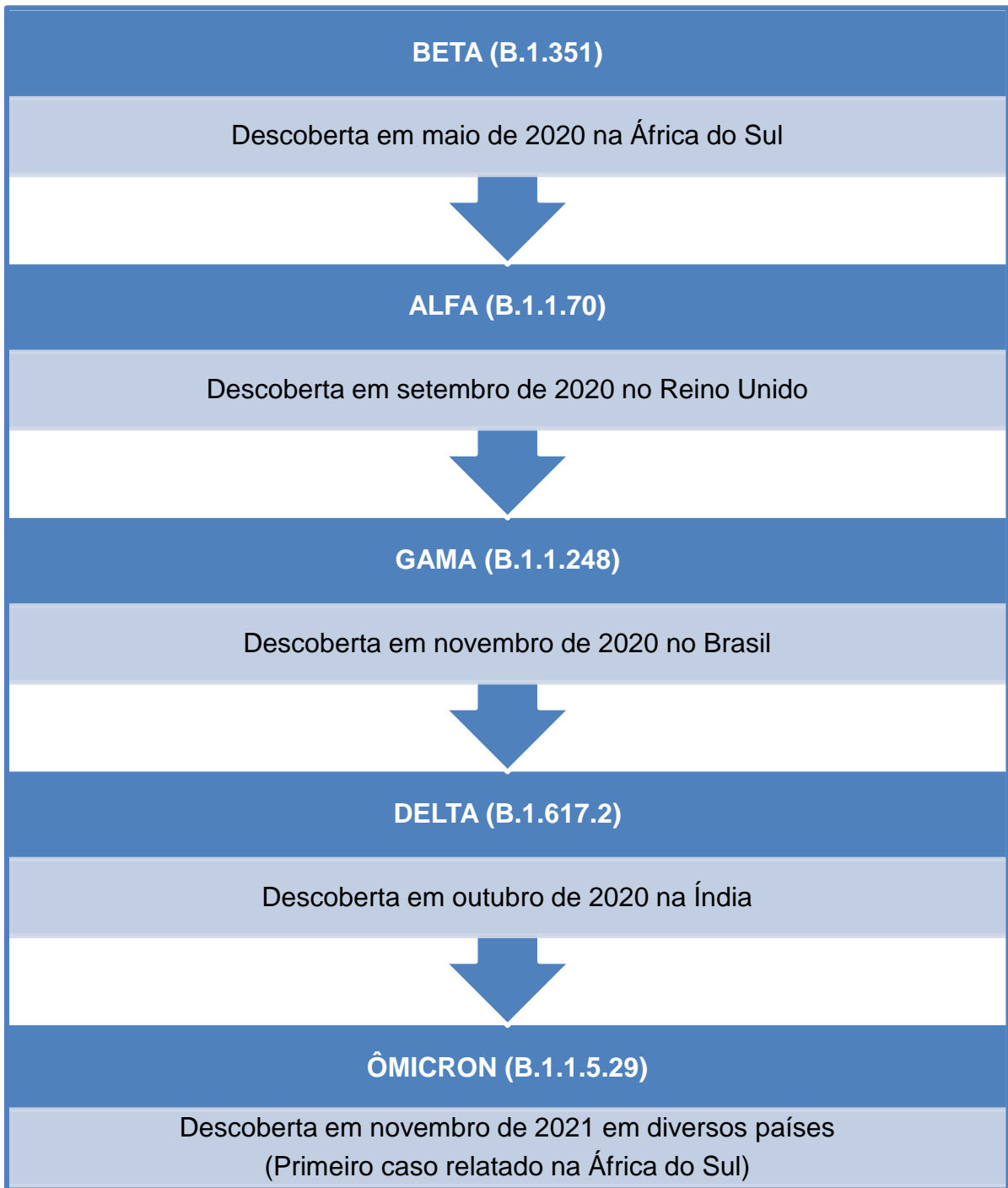
As variantes do SARS-CoV-2 apresentam principalmente mutações na proteína S, que está associada a maior transmissibilidade, tornando-se dominante em algumas regiões por um curto período. Além de maior frequência de reinfeção, essas mutações parecem estar associadas a maior virulência, resistência a anticorpos monoclonais e resistência a anticorpos produzidos por infecções anteriores ou vacinas (Melo, 2024).

É importante ressaltar que, quanto mais pessoas infectadas, maior é a pressão seletiva (qualquer conjunto de condições ambientais que origina o favorecimento de determinados genes em relação a outros em determinada população) para que mutações ocorram. Por isso, regiões extensas como Brasil, África e Índia são favoráveis ao surgimento de novas variantes do SARS-Cov-2 (Palmeira, 2024; Li *et al.*, 2021).

Desde janeiro de 2020 a OMS monitora o surgimento destas novas variantes em colaboração com muitos parceiros, assim é possível avaliar a evolução do SARS-CoV-2. E para evitar estigmas sobre as regiões nas quais elas surgiram, foi proposta nomenclatura baseada em letras do alfabeto grego (Oliveira, 2022).

Segundo a Organização Mundial da Saúde, as principais variantes do SARS-CoV-2 são Alfa, Beta, Gama, Delta e Ômicron (Quadro 1), que são classificadas como variantes de preocupação e de interesse, tendo surgido respectivamente em maio, setembro, outubro e novembro do ano de 2020. Conforme Ordem Cronológica ilustrada na Figura 7 (Melo, 2024).

Figura 7 – Ordem cronológica do surgimento das principais variantes do SARS-CoV-2



Fonte: Do autor (2025).

No entanto, em março de 2023, a OMS atualizou seu sistema de rastreamento e definições de trabalho para variantes de preocupação, variantes de interesse e variantes sob monitoramento, uma vez que o tempo passou, a pandemia já dura mais de três anos (Nishioka, 2023; OMS, 2023).

No sistema ora adotado pela OMS, cada subvariante Ômicron passou a ser considerada, de forma independente, como VUM, VOI ou VOC, pois entendeu-se consensualmente que a Ômicron é a VOC mais divergente já observada, que têm como característica comum sua preferência, em comparação com as VOC anteriores, em infectar células do trato respiratório superior em relação as do trato respiratório inferior e capacidade de evasão a anticorpos produzidos em resposta a infecções prévias e/ou a vacina. Tendo desenvolvido ao longo de quase um ano e seis meses um grande número de sublinhagens ou subvariantes que representam 98% dos RNA de amostras sequenciados desde fevereiro de 2022, e é a partir delas que se espera que futuras VOC se desenvolvam (Nishioka, 2023, OMS, 2023).

Entre as variantes, a Delta foi a mais mortal, seguida de perto pela Ômicron. Acredita-se que a variante Delta causou mais do que o dobro de infecções e mortes do que as variantes anteriores. A taxa de mortalidade durante o período Delta foi mais alta, seguida por Ômicron e Alfa. A taxa de mortalidade para pacientes hospitalizados durante os períodos Alpha, Delta e Ômicron foi de 28,5%, 36,7% e 37,8%, respectivamente. Para pacientes admitidos na UTI durante os períodos Alpha, Delta e Ômicron, as taxas de mortalidade foram de 56,2%, 70,6% e 72,0%, respectivamente; enquanto para aqueles com comorbidades as taxas de mortalidade foram de 11,2%, 14,6% e 15,4%, respectivamente (Tabatabai *et al.*, 2023).

A variante mais atual no momento é a XEC que surgiu pela recombinação genética entre cepas que circulavam anteriormente. O fenômeno ocorre quando um indivíduo é infectado por duas linhagens virais diferentes simultaneamente. Nesta situação, pode ocorrer a mistura dos genomas dos dois patógenos durante o processo de replicação viral. O genoma da XEC apresenta trechos dos genomas das linhagens KS.1.1 e KP.3.3. Além disso, a linhagem apresenta mutações adicionais que podem conferir vantagens para a sua disseminação. Começou a chamar atenção entre junho e julho de 2024, devido ao aumento de detecções na Alemanha. Rapidamente, se espalhou pela Europa, Américas, Ásia e Oceania (Fiocruz, 2024).

Pelo menos 35 países identificaram a cepa, que soma mais de 2,4 mil sequências genéticas depositadas na plataforma GISAID até o dia 10 de outubro deste ano. No dia 24 de setembro de 2024, a XEC foi classificada pela OMS como uma variante sob monitoramento. Isso ocorre quando uma linhagem apresenta mutações no genoma que são suspeitas de afetar o comportamento do vírus e observam-se os primeiros sinais de “vantagem de crescimento” em relação a outras variantes em

circulação. No Brasil, foi identificada no Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. As seqüências genéticas decodificadas foram depositadas na plataforma online Gisaid nos dias 26 de setembro e 7 de outubro de 2024 (Fiocruz, 2024). Os quadros 1, 2 e 3 resumem as VOCs, VOIs e VUMs atuais.

Quadro 1 – Variantes que mais preocupam a OMS devido ao efeito significativo que a propagação destas variantes tem trazido à saúde pública

Nomenclatura OMS	Linhagem	Mutações	País de Origem	Risco
ALFA	B.1.1.7	A variante Alfa possui 17 mutações no genoma viral, destas, oito estão na proteína Espícula (S), mostrando uma maior afinidade da proteína Espícula com os receptores ECA2.	Reino Unido	O aumento da incidência, das internações e da pressão sobre o sistema de saúde pode ser atribuído ao impacto da variação Alfa, conforme afirma a OMS.
BETA	B.1.351	Tem nove mutações na sua proteína Espícula, três das quais no RBD (alteração de aminoácidos K417N, E484K e N501Y), o que aumenta a afinidade pelos receptores ECA2 e confere-lhe um maior risco de infecção.	África do Sul	Estudos estimam que essa variante seja mais transmissível do que outras variantes circulantes na África do Sul e que os pacientes infectados são significativamente mais propensos a serem hospitalizados.
GAMA	P.1	Esta variante tem 12 mutações na proteína Espícula, incluindo três mutações de interesse junto com variante beta (K417N, E484K e N501Y), localizados em domínio de ligação para receptor (RBD).	Brasil (Manaus)	Um estudo mostrou que as mutações ocasionadas por essa variante podem ter maior transmissibilidade em relação as variantes pré-existentes. O risco de internações é maior para pacientes infectados com essa variante, principalmente de internações em UTI.
DELTA	B.1.617.2	Apresenta 12 mutações em sua proteína Espícula, incluindo L452R, T478K, D614G e P681R	Índia	Essa é uma variante preocupante, pois há indícios de escape imune e pode interferir na neutralização por alguns anticorpos policlonais e monoclonais.
ÔMICRON	B.1.1.529	O vírus apresenta 50 mutações, predominantemente no gene que codifica sua proteína Espícula (S). Essa proteína é responsável pela ligação do vírus ao receptor ECA2, que é crucial para entrar nas células humanas.	África do Sul	É capaz de se espalhar mais rápido e infectar um número maior de pessoas do que a variante Delta. Acredita-se que Omicron pode infectar 3 a 6 vezes mais. Essa variante tem uma vantagem de crescimento sobre a Delta e se espalha rapidamente em países com alta imunidade populacional

Fonte: Melo (2024).

Quadro 2 – Variantes de interesse (VOIs) atualmente em circulação (em 28 de junho de 2024)

Linhagem Pango	Próxima cepa clade	Características genéticas	Amostras documentadas mais antigas	Data de designação e avaliações de risco
BA.2.86 [§]	23I	<u>Mutações relativas a BA.2</u>	24-07-2023	21-11-2023 <u>BA.2.86 Avaliação de Risco Inicial, 21 de novembro de 2023</u>
JN.1 [#]	24A	BA.2.86 + S:L455S	25-08-2023	18-12-2023 <u>JN.1 Avaliação Inicial de Risco 18 de dezembro de 2023</u> <u>JN.1 Avaliação de Risco Atualizada 9 de Fevereiro de 2024</u> <u>JN.1 Avaliação de Risco Atualizada 15 de abril de 2024</u>

Fonte: OMS (2024).

Quadro 3 – Variantes atualmente em circulação sob monitoramento (VUMs) (em 24 de setembro de 2024)

Linhagem Pango	Próxima cepa clade	Características genéticas	Amostras documentadas mais antigas	Data de designação
JN.1.7	24A	JN.1 + S:T572I, S:E1150D	25-09-2023	03-05-2024
KP.2	24B	JN.1 + S:R346T, S:F456L, S:V1104L	02-01-2024	03-05-2024
KP.3	24C	JN.1 + S:F456L, S:Q493E, S:V1104L	11-02-2024	03-05-2024
KP.3.1.1	24C	KP.3 + S:S31-	27-03-2024	19-07-2024
JN.1.18	24A	JN.1 + S:R346T	02-11-2023	03-05-2024
LB.1	24A	JN.1 + S:S31-, S:Q183H, S:R346T, S:F456L	26-02-2024	28-06-2024
XEC		JN.1 + S:T22N, S:F59S, S:F456L, S:Q493E, S:V1104L	16-05-2024	24-09-2024

Fonte: OMS (2024).

2.3 COVID-19

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença respiratória aguda, cujo agente etiológico é um novo membro da família coronavírus (CoV), batizado de SARS-CoV-2. Desde que foi identificado na cidade de Wuhan, província de Hubei, na China, em dezembro de 2019, o vírus se disseminou por, pelo menos, 216 países, territórios ou áreas localizados nos cinco continentes (Brito *et al.*, 2020; Estellita *et al.*, 2020).

Até 16 de fevereiro de 2025, dos 777.000.000 casos notificados no mundo, 7.000.000 resultaram em óbitos sendo a taxa de letalidade de 0,9 e no Brasil até a presente data foram notificados 39.168.245 casos, e destes 715.026 casos vieram a óbito sendo a taxa de letalidade de 1,8 e de mortalidade (100 mil habitantes) de 0,17 (Brasil, 2025; OMS, 2025) (Tabela 1).

Tabela 1 – Dados demográficos atualizados da COVID 19 no Brasil

	Casos	Óbitos	Incidência/100 mil hab.	Mortalidade/100 mil hab.
Brasil	39.168.245	715.026	18638,5	340,3
Centro-Oeste	4.598.436	67.193	28216,3	412,3
Sul	8.297.164	113.447	27679,4	378,5
Norte	2.996.182	52.188	16256,2	283,2
Nordeste	7.616.166	137.119	13344,9	240,3
Sudeste	15.660.297	345.079	17721,0	390,5

Fonte: adaptado Brasil (2025).

Diversas condições podem explicar as diferenças nas medidas epidemiológicas referentes à COVID-19 entre países e regiões tais como diferença entre notificações de casos, diferenças entre acesso a sistemas de saúde e qualidade dos mesmos ou diferença na composição das populações, uma vez que a mortalidade tende a ser maior em países com populações mais velhas, por exemplo (Minas Gerais, 2020).

A COVID-19 apresenta taxa de letalidade relativamente baixa, se comparada com outras doenças, como a síndrome respiratória aguda grave (SARS) e a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), ambas causadas por membros do gênero coronavírus (CoV), denominados SARS-CoV e MERS-CoV, respectivamente. No entanto, a taxa de letalidade da COVID-19 é aproximadamente 10 vezes maior que a da influenza sazonal (Brito *et al.*, 2020). A taxa de letalidade se torna alta quando o número de casos confirmados for menor do que é na realidade em decorrência de subnotificação ou por serem não considerados em sua totalidade, uma vez que é

obtida dividindo-se o número de óbitos pelo número de casos confirmados multiplicado por 100 (Bagagli, 2025).

A mortalidade da COVID-19 pode ser considerada baixa, em torno de 0,6%. Porém, os idosos (15%) e pessoas portadoras de comorbidades, como diabetes e hipertensão, apresentam maior risco de mortalidade do que as pessoas mais jovens e sem comorbidades, possivelmente devido a alterações nos receptores da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) (Silva, 2021) e, no entanto, tem causado uma mortalidade sem precedentes em todo o mundo.

Em relação aos fatores de riscos para morte hospitalar pelo novo coronavírus, foi detectado que 48% dos pacientes apresentavam comorbidades, sendo a hipertensão a mais comum (30%). Como foi identificado uma alta prevalência de hipertensão arterial sistêmica (HAS) em casos graves de COVID-19, esta patologia tem sido considerada um fator de risco importante. A HAS quando não tratada e controlada adequadamente pode gerar uma série de complicações como infarto agudo do miocárdio, hemorragias e encefalopatia hipertensiva, cardiopatia isquêmica e insuficiência cardíaca. Os pacientes hipertensos e infectados pelo coronavírus podem apresentar severas manifestações clínicas e complicações em órgãos alvos. Isso se deve à ligação entre o vírus e o receptor ECA II, e outro destaque é o baixo nível de linfócitos em hipertensos (Lopes, 2021).

A pressão arterial é controlada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona. Nele, a renina é sintetizada nas células justaglomerulares renais e age sobre o angiotensinogênio, liberando angiotensina 1 que segundos depois, perde 2 aminoácidos, se transformando na angiotensina 2. É importante enfatizar que esta conversão ocorre quase que inteiramente nos pulmões, sob a ação da enzima ECA. A angiotensina 2 age nos receptores AT1 e AT2 e exerce expressivo efeito vasoconstritor, elevando a resistência vascular periférica e conseqüentemente a pressão arterial e ainda tem atividades pró inflamatórias, especialmente quando interage com o receptor AT1, produzindo fator de crescimento e transformação-beta (TGF- β) e IL-6, que induzem fibrose e participam da fase aguda da inflamação, respectivamente. Existe ainda a enzima ECA 2, que é uma glicoproteína de membrana, responsável por converter a angiotensina 2 em angiotensina, neutralizando os efeitos inflamatórios da angiotensina 2, reduzindo os níveis de interleucina 6 (IL-6) e TGF- β e aumentando os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios das angiotensinas. Assim, quando há um processo, como a infecção por

SARS-CoV-2, um vírus que apresenta tropismo para ECA2 presente nos pulmões e no coração, ocorre a diminuição da função desta enzima, ocorrendo o aumento da pressão arterial e da predisposição a condições inflamatórias (Pessanha, 2021).

A pandemia de COVID-19 provocou mudanças significativas nas esferas social, econômica e de saúde global, com um impacto notável na saúde mental de crianças e adolescentes. O isolamento social, o fechamento de escolas e as alterações na rotina diária foram fatores que contribuíram para um aumento no surgimento de transtornos mentais, como ansiedade e depressão, nesta faixa etária. Esses fatores psicológicos, por sua vez, contribuíram para o aumento dos casos de hipertensão arterial, devido à ativação prolongada do sistema nervoso simpático e à produção contínua de hormônios do estresse, como o cortisol. A hipertensão, antes considerada predominantemente uma condição de adultos, começou então a emergir como uma preocupação de saúde relevante entre adolescentes (Queiroz, 2024).

O SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, tem como alvo principal células multiciliadas no trato respiratório superior (TRS), mas também foi relatado que infecta células fora do TRS e o RNA do SARS-CoV-2 foi detectado no sangue periférico, fezes, urina e secreções oculares. Ele pode se espalhar para o trato respiratório inferior (TRI), onde infecta os alvéolos, levando à redução das trocas gasosas, inflamação e patologias pulmonares típicas da COVID-19. Indivíduos infectados eliminam o vírus através do TRS, com a emissão de vírus infeccioso levando à transmissão secundária e, portanto, à disseminação adicional do vírus (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

A COVID-19 é então transmitida através dos seguintes meios: aerossóis, superfícies infectadas, gotículas expelidas na tosse ou espirro (perdigotos). O período médio de incubação é de 5 dias (2-7), sendo que 97,5% dos infectados desenvolvem sintomas em 11,5 dias. Algumas complicações que a doença pode acarretar são: disfunção cardíaca (arritmias, cardiomiopatia, miocardite), disfunção hemodinâmica, problemas cerebrais (encefalite, problemas cerebrovasculares), problemas pulmonares, hepáticos, renais e no sistema de coagulação (coagulação intravascular disseminada, tromboembolismo venoso e arterial) (Schmidt, 2023).

A COVID-19 é uma doença inespecífica e heterogênea, pois manifesta-se com sintomas que variam desde totalmente assintomáticos até doença grave e morte; sendo um dos principais problemas em relação à COVID-19 uma vez que os sinais e sintomas da doença variam em gravidade, podendo as manifestações clínicas serem

diferentes entre pacientes, desde a ausência de sintomas, a sintomas leves ou moderados e graves (Silva, 2023). Abrangendo um amplo espectro e diferentes níveis de agravamento (Silva, 2021) (Quadro 4). Com isso o amplo espectro clínico da infecção por SARS-CoV-2, associado à inespecificidade dos sintomas mais comuns decorrentes desta, leva assim a dificuldades de diagnóstico baseado no quadro clínico (Cordeiro, 2021).

Quadro 4 – Níveis de agravamento da COVID 19

Leve	Febre, tosse, fadiga, opacidades pulmonares em vidro fosco , sem pneumonia ou pneumonia leve.
Grave	Dispneia, saturação de oxigênio no sangue $\leq 93\%$, frequência respiratória $\geq 30/\text{min}$, relação pressão parcial de oxigênio arterial e fração de oxigênio inspirado < 300 e/ou infiltrados pulmonares $> 50\%$ em 24 a 48 h, (UTI necessária).
Crítico	Síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção ou falência de múltiplos órgãos, coagulação, acidose metabólica de difícil correção, choque séptico.

Fonte: Silva (2021).

As manifestações mais comuns são: febre, tosse e falta de ar; sintomas comuns adicionais incluem fadiga, mialgias, náuseas, vômitos, diarreia, cefaleia, fraqueza, rinorreia, anosmia e ageusia. Uma ampla gama de complicações pode levar a doenças graves e morte, incluindo pneumonia, síndrome de desconforto respiratório agudo, lesão hepática, lesão cardíaca, trombose incluindo acidente vascular cerebral, doença renal, doença neurológica sepsis (Merad *et al.*, 2022).

A maior parte dos indivíduos afetados pelo SARS-CoV-2 se recupera plenamente após a doença. Uma parcela importante, entretanto, permanece sintomática por um período variável de tempo. A persistência de sintomas é mais frequente e variada nas formas mais graves da doença e levou a Organização Mundial da Saúde a definir a síndrome pós-COVID ou COVID longa como uma nova entidade clínica que aparece em pacientes recuperados da infecção pelo SARS-CoV-2. A síndrome se caracteriza pela persistência, por mais de 3 meses, de sintomas que não

podem ser explicados por uma condição prévia à infecção viral. Alguns autores têm tentado agregar os sintomas (*clusters*) e três agregados têm sido propostos como os mais comuns. O mais comum seria vinculado a alterações cardiovasculares decorrentes de sequelas cardíacas ou vasculares pós-infecção que levam aos sintomas, como desconforto pós-esforço, fadiga muscular e dispneia. Outro cluster seria constituído por alterações no sistema nervoso, onde predominam os distúrbios do sono, a ansiedade e a depressão. Um terceiro teria sintomas mais difusos secundários à persistência, a longo prazo, do estado inflamatório da fase aguda. Os sintomas variam em função de comorbidades preexistentes, da idade e da gravidade da doença (Mill; Polese, 2023).

O diagnóstico da COVID-19 se dá através de avaliação clínica e exames complementares, normalmente PCR e testes sorológicos (Quadro 5).

Quadro 5 – Interpretação prática de exames moleculares e sorológicos com sintomas relacionados e significado

Sintomas	RT-PCR	IgM/IgA	IgG	Interpretação
sim	-	-	-	Considerar outros diagnósticos (sugere-se diagnóstico diferencial com outras viroses respiratórias, como influenza, a depender do tempo de sintomas), falso negativo ou janela imunológica
sim	+	-	-	Doença ativa, transmissão provável
sim	+	+	-	Doença ativa, transmissão provável
sim	+	+	+	Doença ativa, transmissão provável
sim	+	-	+	Doença ativa, transmissão provável
não	+	-	-	Infecção assintomática, transmissão possível
não	+	+	-	Infecção assintomática, transmissão possível
não	+	-	+	Infecção assintomática, transmissão possível (baixa probabilidade)
não	+	+	+	Infecção assintomática, transmissão possível (baixa probabilidade)
não	-	+	+	Infecção assintomática prévia, não transmitindo
não	-	+	-	Provável falso-positivo, não transmitindo, sugerido repetir sorologia em 14 dias e/ou RT-PCR
não	-	-	+	Infecção prévia, não transmitindo
não	-	-	-	Nunca teve infecção ou contato prévio, susceptível

Legenda: - negativo; + positivo.

Fonte: Mato Grosso do Sul (2020)

As infecções respiratórias, sejam de etiologia viral ou bacteriana, normalmente apresentam muitos sintomas em comum, o que gera dificuldades na identificação do agente etiológico de uma infecção respiratória, tendo por base somente a apresentação clínica, apesar de a clínica proporcionar um contributo significativo para a detecção da infecção em si, nos casos de infecção sintomática (Cordeiro, 2021).

As infecções por SARS-CoV-2 tem apresentação inespecífica havendo necessidade de ferramentas de diagnóstico precisas para identificá-las que consistem de métodos para detectar a presença de vírus infeccioso, que seriam as partículas virais que podem causar infecção e a carga viral que seriam os níveis de RNA viral (que são amplamente usados como substitutos para vírus infecciosos). Podendo então serem qualitativos, quantitativos ou ambos (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Nesse contexto, o diagnóstico para COVID-19 se dá pela avaliação clínica seguida de exames complementares, tais como cultura celular, testes moleculares, sorológicos, outros, etc. No entanto, a cultura de células com SARS-CoV-2 é feita sob condições de nível de biossegurança 3, então apenas pessoal especialmente treinado em laboratórios com infraestrutura avançada pode realizar esses experimentos. Assim, a detecção de vírus viável por meio de cultura celular não é adequada para diagnósticos e é restrita apenas à pesquisa (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Assim, os métodos principais utilizados detectar infecção por SARS-CoV-2, são testes de amplificação molecular ou de ácido nucleico (por exemplo, testes de PCR) que detectam RNA viral; testes de antígeno que detectam proteínas virais (por exemplo, nucleocapsídeo ou proteínas *Spike*); e testes de sorologia que detectam anticorpos do hospedeiro em resposta à infecção (Lima, 2024) (Quadro 6).

Os sintomas da COVID-19 podem ser confundidos com sintomas de resfriado ou então gripe comum, ou ainda de outras entidades patológicas, por apresentarem sintomas comuns, caracterizando uma síndrome gripal. A síndrome gripal – SG é um estado caracterizado pelo surgimento repentino de sinais e sintomas que englobam dores (de cabeça, de garganta, musculares, articulares e abdominais), febre, calafrios, coriza, tosse seca, náuseas e vômitos, promovendo perda de apetite e mal estar geral. Em razão da ampla quantidade de sinais e sintomas, bem como de suas combinações, esse transtorno de saúde é popularmente chamado de resfriado e configura uma condição, relativamente, comum na população brasileira. A SG, geralmente, se manifesta por sinais e sintomas leves e temporalmente limitados, geralmente de 5 a 7 dias, mas que podem evoluir com a inclusão de sintomas mais graves como

dispneia/desconforto respiratório ou pressão persistente no tórax ou saturação de O₂ menor que 95% em ar ambiente ou coloração azulada dos lábios ou rosto, caracterizando-se assim como Síndrome Respiratória Aguda Grave – SRAG (Severo Santos; Santos, 2024).

Quadro 6 – Principais métodos de diagnósticos da COVID 19

Teste	RT-PCR	Teste rápido/antígeno	Teste rápido/anticorpo	Teste ELISA
Detecção	Vírus infeccioso: - RNA viral	Vírus infeccioso: - Proteína N - Proteína S (fase ativa)	Anticorpos IgG, IgA e IgM	Anticorpos IgG, IgA e IgM
Indicação	Diagnóstico inicial Infecção aguda	Fase final da infecção Encerramento de isolamento	Verificar contato prévio com o SARS-CoV-2	Auxíla o diagnóstico em suspeitos ao exame clínico e outros testes
Momento (realização)	3º dia até o 7º dia pós início dos sintomas, sendo ideal no 5º dia	Dois dias pós PCR + sintomáticos: 5º- 7º dia ocorre maior sensibilidade	IgM: 5º e mais significativo no 8º dia IgG: 10º e mais significativo no 14º dia	IgM e IgA: a partir do 10º dia IgG: 15º dia
Obs.	Uma Carga viral muito baixa não permite saber se a infecção está no fim ou no início	Se for Realizado fora do período indicado: taxa de erro de 75% falso negativo	Inapropriado para diagnóstico precoce	Auxilia a entender a probabilidade assintomáticos e infecções leves em estudos populacionais e elucidar resultados falso negativos.

Fonte: Do autor (2025)

Considerando amplo espectro quantitativo e qualitativo dos sintomas da SRAG, estima-se que mais de 70% deles estão associados a contaminação por agentes virais, tais como: influenza A e B, respiratório-sincicial, metapneumovírus humano, parainfluenza, adenovírus, rinovírus, enterovírus e os coronavírus humanos (HCoV), todos de origem zoonótica, representados pelo SARS-CoV, responsável pela epidemia de SRAG (*Severe Acute Respiratory Syndrome*, “SARS”), MERS-CoV, responsável pela síndrome respiratória do Oriente Médio (*Middle East Respiratory Syndrome*, “MERS e o SARS-CoV-2 responsável pela pandemia da COVID-19. A característica comum desses vírus descritos anteriormente, é a sua capacidade de infectar células epiteliais das vias aéreas com similaridades sintomáticas que podem levar a limitações de diagnóstico (Severo Santos; Santos, 2024).

Contudo, características específicas relacionadas à conjunção de dois ou mais sintomas de alta prevalência em cada agente viral, em particular, pode fornecer informações importantes no sentido de determinar a suspeita sobre um determinado agente causador (Severo Santos; Santos, 2024).

Com base nos estudos epidemiológicos mais recentes, é possível estimar o risco de infecção por SARS-CoV-2 a partir de alguns sintomas que diferenciam a COVID-19 de outras causas da SG. Nesse sentido, os sintomas clínicos mais comuns, associados a COVID-19, compreendem febre (65% a 99%), tosse (22% a 82%), dificuldade para respirar (17% a 40%) nos casos mais graves e dor muscular ou fadiga (11% a 44%). Além disso, a perda do olfato e/ou paladar foi observada em cerca de 65% dos pacientes, sendo o sintoma mais característico da COVID-19, responsável pelo aumento de 531% a 621% no risco de testar positivo para SARS-CoV-2 (Severo Santos; Santos, 2024).

O conhecimento atual a respeito dos sintomas iniciais da COVID-19 pode auxiliar na identificação de cerca de 87,5% dos casos, quando a perda do olfato e/ou paladar é somada a febre ou tosse e assim a presença de dois ou mais sintomas de SG configura caso suspeito de COVID-19, ainda que sem prova sorológica ou internação hospitalar (Severo Santos; Santos, 2024).

Portanto, é de suma importância o diagnóstico diferencial entre COVID-19 e outras causas de síndrome gripal especialmente a gripe e o resfriado comum notando que a COVID-19 apresenta sintomas que vão de leves a severos, o resfriado apresenta-se com sintomas iniciando gradualmente enquanto a gripe apresenta-se com sintomas iniciando repentinamente.

Quando surgem os primeiros sintomas respiratórios como coriza, dor de garganta e febre, não é raro surgir a dúvida se se trata apenas de um quadro de resfriado, de gripe ou de COVID-19. A dúvida procede pois ambos têm sintomas idênticos ou semelhantes, de acordo com o (Instituto Butantan, 2023).

No entanto, são processos patológicos diferentes sendo que influenza, agente etiológico da gripe, é um vírus de RNA da família *Orthomyxoviridae*. Ele é descrito pelos tipos A, B, C e D, sendo os vírus influenza A e B os de maior importância epidemiológica e, por isso, a base das vacinas inativadas contra a gripe. O período médio de incubação da influenza A e B é de dois dias, podendo variar de um a quatro dias (Instituto Butantan, 2023).

Enquanto o coronavírus é um vírus de RNA da família *Coronaviridae* repleto de variantes conhecidas, as cepas circulantes atualmente são subvariantes da Ômicron que são as mais transmissíveis. O período de incubação das variantes da Ômicron é de 2 a 3 dias, menor do que os períodos de incubação das cepas anteriores (Instituto Butantan, 2023).

Algumas características favorecem mais o diagnóstico de uma doença do que de outra. A influenza ocorre mais no outono e no inverno, ao passo que a COVID-19 não tem uma sazonalidade bem definida, por exemplo. O período de incubação e de transmissibilidade das duas doenças é semelhante, sendo um pouco maior para a COVID-19 (Instituto Butantan, 2023).

Quanto aos sintomas, a influenza se caracteriza por um quadro de febre súbita e elevada, associada a tosse produtiva, congestão nasal e menos frequentemente por falta de ar, além de vômitos e diarreia. A duração é de uma a duas semanas. Por sua vez, a COVID-19 tem um curso mais errático, ou seja, quando os sintomas variam a cada dia, podendo durar cerca de três semanas: a doença começa com um quadro de febre, tosse, dor de garganta, e pode evoluir para a forma grave, com falta de ar ao fim da primeira semana de sintomas, e de forma mais frequente do que na Influenza. Outros sintomas muito e característicos da COVID-19 são a alteração de paladar e de olfato (Instituto Butantan, 2023).

Geralmente crianças infectadas pelo vírus influenza apresentam, além do quadro típico de febre alta e tosse produtiva, uma frequência maior de diarreia e vômitos. Já os adultos apresentam o quadro típico de influenza e raramente têm estes últimos sintomas. Nos idosos, quadros infecciosos podem se manifestar na forma de uma confusão mental (estado confusional agudo), mesmo sem febre. O prognóstico em crianças e em idosos, isto é, a evolução para formas graves, pode causar desconforto respiratório agudo, resultando em hospitalização, e costuma ser pior nos pequenos (Instituto Butantan, 2023).

Em casos de COVID-19, a diferença fundamental é que as crianças apresentam usualmente quadros de infecção assintomática pelo coronavírus e raramente evoluem para formas graves, quando ocorre a chamada Síndrome Inflamatória Multissistêmica. Adultos e idosos apresentam mais frequentemente alguns sintomas, porém os idosos, sobretudo aqueles com comorbidades, tais como diabetes, cardiopatia, doença renal crônica, entre outras, têm maior chance de evolução para quadros graves que resultam em hospitalização, necessidade de

oxigênio ou mesmo de internação em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e ventilação mecânica (Figura 8) (Instituto Butantan, 2023).

Figura 8 – Diagnóstico diferencial COVID-19/Gripe

COMO DIFERENCIAR OS SINTOMAS DA GRIPE E DA COVID-19		
	Influenza	Covid-19
Sintomas comuns	<ul style="list-style-type: none"> Febre súbita e alta ou sensação de febre/calafrios Tosse Falta de ar ou dificuldade para respirar (raro) Fadiga (às vezes) Dor de garganta Nariz escorrendo ou entupido (mais frequente que na Covid) Dores musculares ou dores no corpo (comum) Dor de cabeça Vômito Diarreia Alteração ou perda de paladar ou olfato (raro) 	<ul style="list-style-type: none"> Febre ou sensação de febre/calafrios Tosse Falta de ar ou dificuldade para respirar (5%, após os primeiros sete dias) Fadiga (comum) Dor de garganta Nariz escorrendo ou entupido Dores musculares ou dores no corpo (menos frequente que na influenza) Dor de cabeça Vômito Diarreia Alteração ou perda de paladar ou olfato
Duração dos sintomas	1-2 semanas	1-3 semanas
Evolução para Síndrome Respiratória Aguda Grave (escore da OMS ≥ 6)	Raro (12 casos por 100.000 habitantes, por ano)	5-10% dos casos (frequência aumenta conforme a idade)
Possibilidade de coinfeção	Sim (6%), mais frequente entre casos graves,	Sim (6%), mais frequente entre casos graves,
Infecção assintomática	4%-28%	35,1% -39%
Reinfecção	Baixa: <1% após um ano, 4,6% após cinco anos e 9,6% após dez anos	Frequente, ocorrendo entre 28 e 90 dias após a infecção inicial. Reinfecção é mais comum por conta das cepas ômicron Quase 26% das pessoas infectadas com a cepa original de SARS-CoV-2 relataram aumento da incidência de reinfecção com variantes subsequentes
Contágio	Entre 3-4 dias após a infecção	O período de contágio começa antes dos sintomas e vai até 10 dias
Forma de contágio	Contato, gotículas e aerossol	Contato, gotículas e aerossol
Tratamento	Para sintomas: Inibidores de neuraminidase (oseltamivir (oral), zanamivir (inalação) e peramivir (IV))	Casos leves/moderados • Sotrovimabe • Paxlovid (nirmatrelvir + ritonavir) • Molnupiravir Casos graves (hospitalização e necessidade de oxigênio) • Sotrovimabe • Remdesivir • Tocilizumabe • Dexametasona
Vacinas	Sim (vacina inativada contra influenza tri ou tetravalente anual para grupos de risco: crianças, idosos, profissionais da saúde, gestantes, imunossuprimidos)	Sim (diversas plataformas, para população infantil, adulta e grupos de risco). Esquema primário de duas doses com intervalo e reforços (3, 4 e 5 doses)
Sintomas crônicos	Raros	Covid longa é relativamente frequente: • Tosse • Fadiga • Falta de ar • Dores musculares e articulares • Problemas de sono • Perda de olfato ou paladar • Humor baixo e depressão • Ansiedade

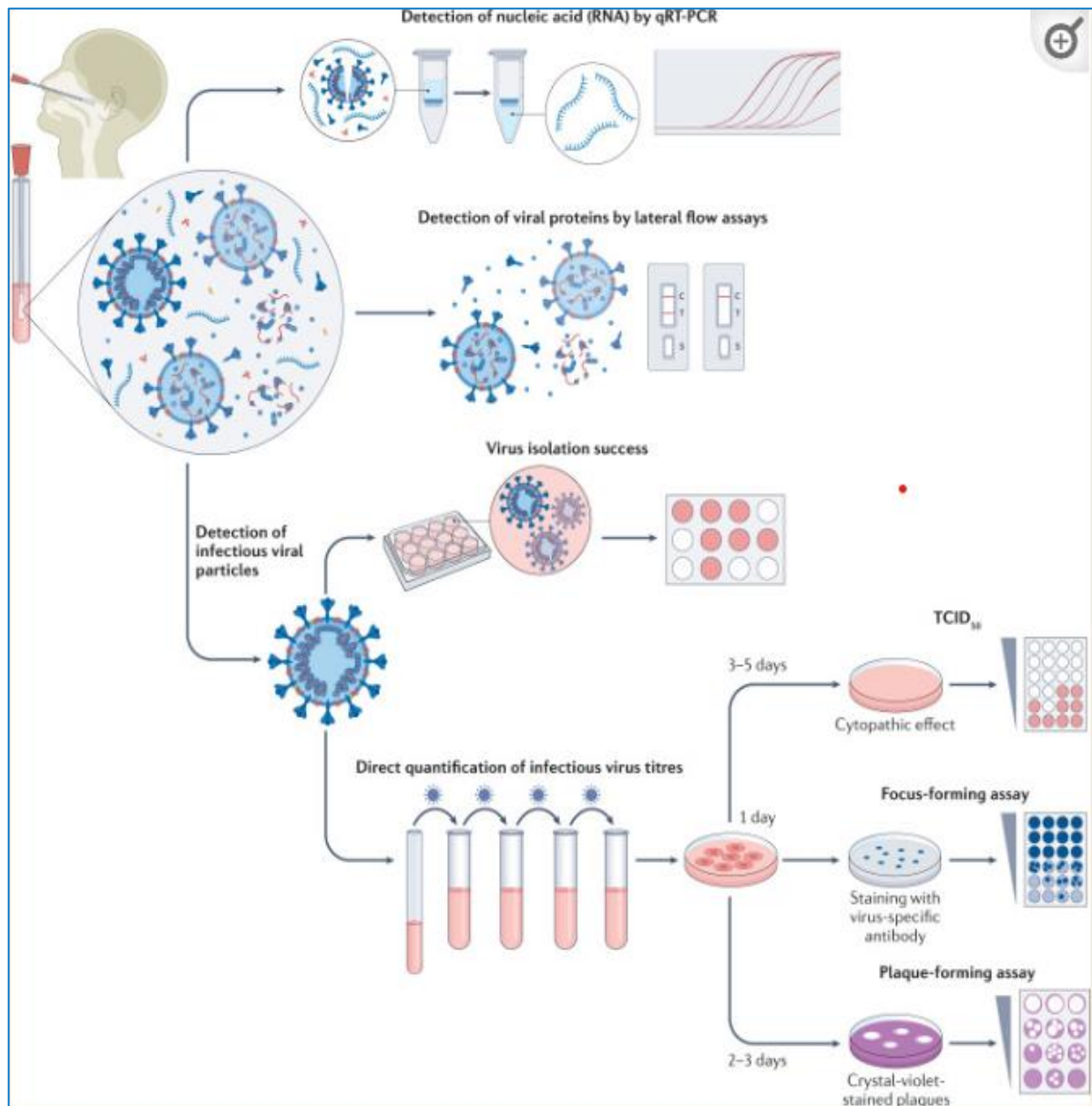
Fonte: adaptado Instituto Butantan (2023).

É usada para determinar a presença de vírus infeccioso (ou seja, replicação competente) em amostras respiratórias, procedimento comumente denominado isolamento viral. No caso do SARS-CoV-2, várias linhagens celulares e células primárias podem ser usadas para isolamento do vírus, incluindo aquelas que expressam a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2); o receptor necessário para a entrada do vírus ou a protease transmembrana 2 (TMPRSS2); que também é

importante para a entrada do vírus. Porém é um método utilizado somente para pesquisa, não sendo comumente utilizado para diagnóstico por exigir laboratório com nível de biossegurança 3 (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

O padrão ouro para diagnóstico laboratorial de uma infecção do trato respiratório é a demonstração do RNA viral com um RT-PCR semiquantitativo específico do vírus a partir de material coletado do trato respiratório determinando a carga viral obtida de amostras de *swab* da nasofaringe ou então da orofaringe. A PCR quantitativa em tempo real (qRT-PCR possibilita a detecção de ácidos nucleicos virais - RNA) (Figura 9) (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Figura 9 – Métodos de medição de carga viral e vírus infecciosos e RNA



Fonte: Puhach; Meyer; Eckerle (2023).

Nesse caso, o RNA viral é extraído do vírus lisado, transcrito reversamente e amplificado por qPCR usando *primers* específicos para uma ou mais regiões-alvo no genoma viral. Os ensaios quantitativos de RT-PCR fornecem um valor Ct, que é inversamente correlacionado com a concentração do RNA viral alvo na amostra clínica, ou seja, quanto maior o valor, menor o RNA alvo na amostra. O ciclo de amplificação no qual as amostras cruzam o limite (limite do ciclo) define a quantidade de RNA viral. A carga viral de RNA pode ser expressa como o número de cópias de RNA viral por mililitro de meio de transporte viral ou por *swab* total ou então pelo valor limite do ciclo específico do teste arbitrário. A alta especificidade e sensibilidade do RT-PCR o tornam o padrão ouro para o diagnóstico de infecções por SARS-CoV-2 (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

No entanto, ao tomar um determinado valor de Ct ou número de cópias de RNA como um limite, não é possível determinar se a carga viral de RNA está aumentando ou já diminuindo; portanto, uma carga viral baixa poderia ser medida no final da infecção ou na fase inicial (pré-sintomática) antes de atingir o pico de carga viral (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Assim como na detecção de vírus infecciosos, vários outros parâmetros podem influenciar sobre a carga viral a ser detectada, como por exemplo local da coleta da amostra; em que alguns estudos relatam maior carga viral de RNA em *swabs* nasais ou nasofaríngeos, enquanto outros mostram maior carga viral de RNA em amostras de garganta ou então o meio de transporte usado para a amostra, a condição de armazenamento e a qualidade da amostra que podem influenciar ainda mais na detecção de RNA viral (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Para diagnóstico de infecção ativa em pacientes sintomáticos ou suspeitos de COVID-19, o teste padrão é o RT-PCR. O período ideal para coleta de RT-PCR em *swab* oronasofaríngeo/secreção traqueal (paciente em ventilação) é entre o 3º e o 7º dia de sintomas (Dias, 2020).

O PCR é um teste específico com capacidade de detecção do RNA viral, possibilitando a detecção do vírus entre 2 a 5 dias após a infecção, quando ocorre replicação viral significativa dentro das células do paciente infectado. Por isso tem resultados confiáveis nas amostras coletadas entre 3 a 7 dias do início dos sintomas, sendo o 5º dia considerado ideal para essa metodologia de teste (Mato Grosso do Sul, 2020)

Segundo Vogl *et al.* (2021), testes sorológicos são testes que produzem resultados positivos depois que o corpo desenvolve uma resposta de anticorpos. Este processo é chamado de soroconversão e leva cerca de 1 a 2 semanas após o início dos sintomas do SARS-CoV-2. Altos títulos de anticorpos persistem por várias semanas, permitindo a detecção de infecções anteriores, prévias, com testes sorológicos, mesmo depois de o vírus ter sido eliminado. Além disso, testes de anticorpos também são fundamentais para avaliar a taxa de mortalidade por infecção (IFR) e a taxa de letalidade. A taxa de letalidade (CFR) indica a percentagem de mortes de todos os casos diagnosticados com uma doença. O IFR também captura indivíduos que não foram diagnosticados durante a fase aguda da infecção e, assim, fornece informações potencialmente menos tendenciosas por sintomas ou critérios de seleção para testes qRT-PCR. O conhecimento do IFR é fundamental para avaliar a gravidade da COVID-19 e obter informações sobre a sua transmissão.

Sendo assim, Oliveira *et al.* (2022) afirmaram que os exames sorológicos podem ser usados como ferramentas auxiliares para diagnóstico de infecção prévia e para estudos populacionais, porém, deve-se avaliar primordialmente alguns parâmetros como validação e acurácia do teste, seleção da amostra e a interpretação dos resultados.

De acordo com Silva (2021), a padronização e validação de um teste, consiste da realização de um estudo amplo no qual o mesmo é comparado a um teste de referência em conjunto a um número expressivo populacional significativo para determinar a prevalência da doença utilizando esse teste, além de parâmetros estatísticos descritivos como a sensibilidade, especificidade, reprodutibilidade, reação cruzada, acurácia, valor preditivo positivo, valor preditivo negativo e razão de verossimilhança. A acurácia (A) consiste em avaliar a proporção de todos os testes corretos (verdadeiros positivos e verdadeiros negativos), sobre todos os resultados obtidos. O valor preditivo positivo (VPP) indica qual a probabilidade de uma pessoa com teste positivo realmente tenha a condição. Já o valor preditivo negativo (VPN) indica qual a probabilidade de uma pessoa com teste negativo realmente não tenha a condição e por fim razão de verossimilhança para teste positivo (*likelihood ratio*), indica qual é a probabilidade de encontrarmos um teste positivo em uma pessoa com a doença, comparado a uma pessoa sem a doença. A sensibilidade indica a capacidade de um teste detectar corretamente as pessoas com a doença/condição,

enquanto a especificidade indica a capacidade de um teste excluir corretamente as pessoas sem a doença/condição.

Segundo Mato Grosso Do Sul, 2020 e Dias *et al.* (2020) os testes sorológicos para COVID-19 apresentam as seguintes indicações:

- a) anticorpos contra os antígenos do SARS-CoV-2 IgG, IgM e IgA e totais podem ser detectados em sangue total, soro ou plasma por testes convencionais (ensaios Imunoenzimáticos ou quimioluminescência) ou testes rápidos imunocromatográficos;
- b) testes sorológicos para SARS-CoV-2 podem ser usados como exame complementar para diagnóstico de infecção prévia ou recente por COVID-19 especialmente quando a infecção viral está em via aérea baixa e o RT-PCR pode ser negativo em secreção de oronatorofaringe;
- c) testes sorológicos para SARS-CoV-2 também podem ser indicados para estudos populacionais, porém deve-se ter atenção quanto à validação e acurácia dos testes utilizados, bem como seleção da amostra e interpretação de resultados.

Ainda segundo Mato Grosso Do Sul, 2020 e Dias *et al.* (2020) os testes sorológicos para COVID-19 são contraindicados nas seguintes situações:

- a) testes sorológicos para SARS-CoV-2 não estão indicados para pré-operatório de cirurgia eletiva e também não devem ser utilizados na identificação e controle de surtos entre profissionais de saúde, por não indicarem período de infectividade ou transmissibilidade da doença;
- b) testes sorológicos não devem ser utilizados isoladamente para indicar ou retirar o paciente das precauções respiratórias. Os critérios para retirada do paciente com doença confirmada pela COVID-19 das precauções respiratórias, quando indicado, devem incluir análise de sintomas e/ou teste de RT-PCR para SARS-CoV-2.

O teste padrão ouro para o diagnóstico da COVID-19 é o RT-PCR. Contudo na indisponibilidade do RT- PCR e, em algumas circunstâncias, a COVID-19 pode ser identificada indiretamente pela mensuração da resposta imune do hospedeiro à infecção pelo vírus SARS-CoV-2 pelos testes sorológicos (Dias *et al.*, 2020).

As vantagens e desvantagens dos testes rápidos de anticorpos estão dispostas nos itens abaixo. Vejamos:

- a) vantagens:

- embora os Ag-RDTs (testes rápidos de detecção de antígenos) sejam menos sensíveis que os RT-PCR, eles são menos dispendiosos, podem ser realizados fora dos ambientes laboratoriais e fornecem resultados mais rápidos, sendo, portanto, ferramentas úteis para orientar o isolamento e limitar a transmissão (Puhach; Meyer; Eckrle, 2023);
- há pouca evidência de reação cruzada com anticorpos vacinais;
- os testes rápidos de anticorpos permitem a detecção de infecções anteriores, mesmo depois de o vírus ter sido eliminado, possibilitando a captura de indivíduos que não foram diagnosticados durante a fase aguda da infecção e, assim, fornecendo informações potencialmente menos tendenciosas por sintomas ou por critérios de seleção para testes qRT-PCR e são fundamentais avaliar a taxa de mortalidade por infecção e a taxa de letalidade (CFR (*Case Fatality Ratio*, em inglês), avaliar a gravidade da COVID-19 e obter informações sobre a sua transmissão (Vogl *et al.*, 2021);
- os testes sorológicos de anticorpos são um dos métodos mais fáceis para verificar a presença de anticorpos antipatógenos após uma infecção ou vacinação. Assim, os testes de anticorpos podem avaliar facilmente o estado clínico (se a pessoa teve infecção anterior ou vacinação), auxiliar no diagnóstico de síndrome inflamatória multissistêmica em crianças e adultos e monitorar os níveis de imunidade (por exemplo, taxa de infecção, taxa de vacinação) na população (Iwamoto *et al.*, 2024).

b) desvantagens:

- a acurácia dos testes sorológicos varia por metodologia, antígeno empregado e momento da coleta (idealmente após 10º dia para IgM IgA e anticorpos totais e, após 15º dia, para IgG) (Mato Grosso Do Sul, 2020; Dias *et al.*, 2020);

- reações cruzadas são descritas com outros coronavírus como Zika, Dengue e Fator Reumatoide (Mato Grosso Do Sul, 2020, 2020; Dias *et al.*, 2020);
- a menor sensibilidade da detecção do vírus infeccioso no final da infecção não deve ser negligenciada com os Ag-RDTs (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023);
- os Ag-RDTs também mostram variação em sua sensibilidade e especificidade para detecção de CoVs do SARS-CoV-2, o que é um desafio à medida que novas variantes surgem (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Segundo Zheng *et al.* (2022), a maioria dos pacientes com COVID-19 produz um ou mais anticorpos específicos contra SARS-CoV-2. Os anticorpos IgM e IgG sempre foram o foco ao descrever as características imunológicas, enquanto as reações de IgA mucosa e sistêmica, que também podem desempenhar um papel importante na patogênese desta doença, receberam menos atenção. Até o momento, alguns estudos revelaram vários tipos de soroconversão após a infecção por SARS-CoV-2.

Em um estudo realizado anteriormente por Long *et al.* (2020), os autores verificaram respostas agudas de anticorpos à infecção por SARS-CoV-2 em 285 pacientes com COVID-19 e observaram que os títulos de IgM e IgG tendem a ser estáveis dentro de 6 dias após a soroconversão, e a mesma foi atingida dentro de 20 dias do início dos sintomas. A proporção de pacientes positivos para IgG específica para o vírus foi de aproximadamente 100% dentro de 17-19 dias do início dos sintomas, enquanto para IgM atingiu o pico de 94,1% aproximadamente em 20-22 dias. O tempo médio para IgG e IgM foi de 13 dias após o início dos sintomas. Além disso, observaram três tipos: síncrona de IgG e IgM (nove pacientes), de IgM que ocorreu antes da de IgG (sete pacientes) e de IgM que ocorreu depois da de IgG (dez pacientes). O valor máximo de anticorpos específicos dentro de 6-20 dias é significativamente maior em pacientes com doença grave do que naqueles com sintomas leves. Assim, os autores concluíram que existem vários tipos e diferentes cinéticas de anticorpos IgM e IgG específicos para SARS-COV-2 e que a análise dos níveis de IgA em pacientes com COVID-19 possui estudos limitados.

No mesmo sentido, Ma *et al.* (2020) ao realizar um estudo para analisar os níveis de anticorpos IgM, IgG e IgA específicos para RBD do SARS-CoV-2 em 87

pacientes com COVID-19 observaram que os anticorpos IgM específicos para RBD viral fornecem melhores resultados diagnósticos em estágios iniciais da doença, enquanto os anticorpos IgG são preferidos em estágios posteriores da doença tendo descoberto também que os níveis medianos de IgA específica para RBD começaram a diminuir após o pico durante 16–20 dias após o início da doença, mas permaneceram em níveis relativamente altos até 31-41 dias, indicando que a IgA é poderosa para diagnósticos em estágios iniciais e posteriores.

Cervia *et al.* (2021) revelaram ainda que um aumento significativo na produção de anticorpos IgG e IgA séricos específicos para proteína S do SARS-CoV-2 desenvolve-se em pacientes com COVID-19 grave após o início dos sintomas, com títulos de IgA séricos muito altos correlacionados com síndrome do desconforto respiratório agudo grave. Sendo assim, Medeiros *et al.* (2021) apontaram que a imunoglobulina da classe A (IgA) tem sido descrita como um marcador precoce de infecção respiratória aguda por SARS-CoV-2, apresentando também alta capacidade de neutralização viral.

Os testes sorológicos podem ser do tipo testes rápidos (*lateral flow* - imunocromatográficos) ou testes sorológicos convencionais representados pelo método de imunoabsorção enzimática e quimioluminescência que detectam os anticorpos IgG, IgM e IgA e totais, contra os antígenos do SARS-CoV-2 em sangue total, soro ou plasma (Oliveira *et al.*, 2022). A acurácia dos mesmos varia de acordo com metodologia, antígeno empregado e momento da coleta (idealmente após 10º dia para IgM, IgA e anticorpos totais e, após 15º dia, para IgG) (Dias *et al.*, 2020).

Os testes rápidos, também conhecidos como testes imunocromatográficos ou testes do fluxo lateral (LFAs) (*lateral flow*) são pequenos dispositivos (como testes de gravidez caseiros) e podem ser realizados no local de atendimento sem equipamento adicional, produzindo resultados qualitativos em poucos minutos. Eles baseiam-se na imobilização de todos os reagentes necessários em diferentes zonas de uma tira polimérica. Uma amostra de sangue é adicionada de um lado e se move por força capilar através de anticorpos recombinantes conjugados em direção a uma linha de detecção. Devido a esta configuração simples, não são necessárias etapas de lavagem e usa-se apenas pequenas quantidades de amostra (Vogl *et al.*, 2021).

Os testes rápidos utilizam o método imunocromatográfico que consiste na busca da reação de anticorpos imunoglobulina M (IgM) ou imunoglobulina G (IgG) no sangue (Shen *et al.*, 2020). A IgM é geralmente o primeiro anticorpo a ser secretado

por possuir uma estrutura pentâmera que elimina patógenos antes da produção da IgG, sendo essa última utilizada como anticorpo de memória, assim realizando um ataque específico, evitando o organismo adoecer devido a exposição do mesmo patógeno (Pan *et al.*, 2020).

Atualmente, encontram-se disponíveis no mercado dois tipos de testes rápidos, aqueles que detectam proteínas na fase ativa da infecção, conhecidos como teste de antígeno, e aqueles que identificam a presença de anticorpos que são produzidos por uma resposta imunológica do organismo quando exposto ao vírus (Oliveira *et al.*, 2022).

- a) testes rápidos para antígenos são ensaios imunocromatográficos que detectam qualitativamente antígenos de SARS-CoV-2 frente à infecção (Dutra, 2022). Em sua maioria, detectam proteínas virais específicas nas partículas virais lisadas sendo a mais utilizada a proteína do Nucleocapsídeo SARS-CoV-2; no entanto não devem ser utilizados como método diagnóstico preciso, pois não fornecem informações referentes ao período de infectividade ou transmissibilidade da infecção e quando realizados fora do período indicado, podem apresentar sensibilidade e especificidade muito reduzidas e taxa de erro em torno de 75% de resultados falso negativo, acarretando em insegurança e incerteza para interpretação diagnóstica. Apesar da RT-PCR ser altamente sensível e específica na detecção de RNA viral em espécimes respiratórios, ela não distingue entre vírus competente para replicação e RNA residual. O teste RT-PCR constitui uma ferramenta útil para o diagnóstico inicial, enquanto os Ag-RDTs podem servir como um indicador para encerrar o período de isolamento, pois o RNA viral (que seria captado por RT-PCR) permanece detectável na ausência de vírus infeccioso, enquanto a positividade de Ag-RDTs se correlaciona melhor com a presença de vírus infeccioso. Todavia, na ausência de um teste de diagnóstico, a infecciosidade é frequentemente estabelecida pela presença de RNA viral acima de um valor de limite de ciclo (Ct) definido ou um Ag-RDT positivo (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023). Os primeiros pontos de tempo durante a infecção geralmente dão resultados negativos com Ag-RDT em indivíduos que testaram positivo por PCR. Em média, os primeiros resultados positivos de Ag-RDT são obtidos

cerca de 1-2 dias depois dos resultados positivos de PCR, enquanto a maior sensibilidade em pacientes é mostrada durante os primeiros 7 dias pós sintomas nos estudos com SARS-CoV-2 ancestral (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023). Por isso, os Ag-RDT devem ser realizados entre o segundo e sétimo dia do início dos sintomas. Os resultados podem ser observados em cerca de 15 a 20 minutos (Dutra, 2022);

- b) testes rápidos para anticorpos são testes que detectam anticorpos ou imunoglobulinas, IgA, IgM e IgG em pessoas que foram expostas ao SARS-CoV-2 a partir da amostra de sangue do paciente. A IgM é identificada a partir do quinto dia de sintomatologia e, mais significativamente, a partir do oitavo dia, enquanto os valores de IgG específica começam a ser detectáveis a partir do décimo dia do início dos sintomas e, mais significativamente, a partir do 14^o dia. Esses testes não são apropriados para o diagnóstico precoce da infecção pelo SARS-CoV-2, eles podem auxiliar no diagnóstico de inflamação multissistêmica relacionada a COVID-19 (Oliveira *et al.*, 2022). São testes que produzem resultados positivos depois que o corpo desenvolve uma resposta de anticorpos. Este processo é chamado de soroconversão e leva cerca de 1 a 2 semanas após o início dos sintomas do SARS-CoV-2. Altos títulos de anticorpos persistem por várias semanas, permitindo a detecção de infecções anteriores com testes sorológicos, mesmo depois de o vírus ter sido eliminado (Vogl *et al.*, 2021).

Testes sorológicos convencionais são representados pelo método de imunoabsorção enzimática conhecido como ELISA (do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*, ELISA), o método de Quimioluminescência (do inglês *Chemiluminescence Immunoassay*, CLIA) e o método de Eletroquimioluminescência (ECLIA) e como o teste *Lateral Flow* os testes ELISA são capazes de quantificação de IgG e IgM enquanto os testes ECLIA também estão disponíveis para detecção de anticorpos totais ou apenas para IgG. Esses métodos apresentam sensibilidade superior ao teste rápido na detecção dos anticorpos, porém, assim como o teste rápido, a acurácia destes ensaios é dependente da época em que a coleta foi realizada, cujas recomendações são a partir do 10^o dia do início dos sintomas para IgM e IgA e após 15^o dia para IgG (Oliveira *et al.*, 2022).

O método ELISA ou da imunoabsorção enzimática (do inglês Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) consiste em técnicas que medem atividade enzimática sobre um substrato objetivando a obtenção de medidas quantitativas diretas da interação antígeno-anticorpo (Silva, 2021) e tem como base a interação entre antígeno-anticorpo, que realiza uma ligação específica, seja ela diretamente ou indiretamente. Quando a enzima realiza a interação com o substrato, há uma mudança na coloração e essa é usada como marcador para a interpretação do resultado (Matos *et al.*, 2021).

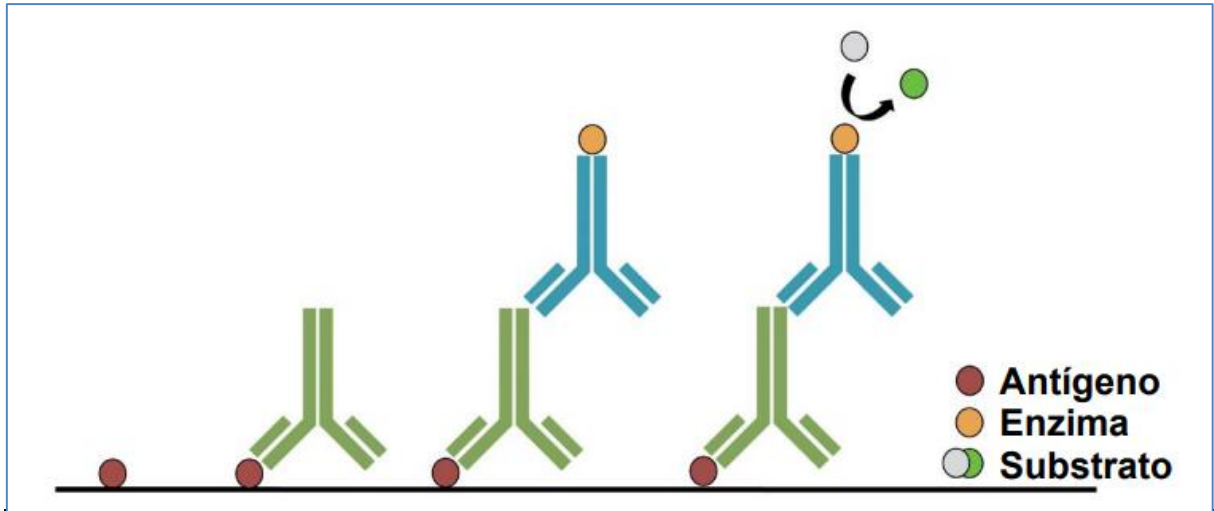
Esse ensaio utiliza uma placa revestida com proteína viral, onde as amostras são incubadas e, quando na presença de anticorpos, ocorre uma ligação destes anticorpos com uma proteína específica formando um complexo proteína-anticorpo e, dessa forma, pode ser detectado por ligação a um novo lote de anticorpos fluorescentes. Informações da agência reguladora americana FDA (do inglês, *Food and Drug Administration*) indicam que esse teste é um auxílio no diagnóstico de pacientes com suspeita de COVID-19 em conjunto com a apresentação clínica e os resultados de outros testes laboratoriais. Portanto, não devem ser usados como única base para o diagnóstico de pacientes com infecção aguda por COVID-19. O teste de anticorpo IgG pelo método ELISA consiste em dois ensaios diretos e em série: o primeiro é realizado contra o domínio de ligação ao receptor recombinante de SARS-CoV-2 no soro e plasma; o segundo, é realizado para amostra contendo o anticorpo, e é empregado um ensaio ELISA confirmatório contra a proteína *Spike* do SARS-CoV-2 de comprimento total no soro e plasma (Oliveira *et al.*, 2022).

A grande aplicabilidade do ELISA refere-se aos diagnósticos de doenças reumatológicas, HIV, Hepatites, bem como identificar a concentração de substâncias na urina como drogas ilícitas e beta HCG. No atual cenário de pandemia do COVID 19 o ELISA também vem sendo usado para identificação dos anticorpos, possibilitando a informação de que o paciente está com a doença em atividade ou se já teve, gerando um impacto positivo na ajuda para controle. Desse modo, é possível observar o amplo espectro de utilidades para esse teste e sua aplicabilidade no diagnóstico de diversas doenças (Matos *et al.*, 2021).

O ELISA indireto é um ensaio amplamente utilizado para a detecção e/ou quantificação de anticorpos em amostras de soro, com destaque em estudos soropidemiológicos. A especificidade dessa prova é garantida principalmente pela qualidade do antígeno adsorvido à placa. Neste utilizam-se duas IgG, uma para

reconhecer o antígeno e outra (anti-IgG) produzida em diferentes espécies de animal que reconhece a primeira IgG, com a qual se ligará (Silva, 2021) (Figura 10).

Figura 10 – ELISA indireto



Fonte: adaptado e traduzido de Shah; Maghsoudlou (2016 *apud* Silva, 2021).

A interpretação de resultados do teste ELISA indireto é realizada de acordo com a finalidade do teste, que pode ser usado apenas para detectar a presença do anticorpo de interesse, positividade ou não, sendo qualitativo ou então para medir a titulação, quantidade de anticorpos na amostra; sendo então quantitativo. Faz-se então um ELISA indireto em apenas uma diluição ou então uma titulação por ELISA indireto respectivamente (Gaspar *et al.*, 2015).

Nos casos em que o ELISA indireto foi padronizado para a amostra ser testada em apenas uma diluição, a resposta do teste será apenas positiva ou negativa (Gaspar *et al.*, 2015). Para determinar a partir de qual valor de absorvância uma determinada amostra é considerada positiva, faz-se necessário o uso de soros, que podem ou não conter anticorpos, controle negativo para o antígeno que se está procurando (antígeno adsorvido na placa). Em cada placa, amostras de soro controle negativo (número variável conforme a padronização do teste) são testadas em duplicata ou triplicata. Determina-se a média e o desvio padrão das amostras controle negativo e o valor de *cut-off* (ponto de corte, ponto discriminativo ou limiar) normalmente equivale à média da absorvância mais dois ou três desvios padrão obtidos para os soros controle negativos ($cut\ off = \bar{X} + 2 \times SD$ ou $cut\ off = \bar{X} + 3 \times SD$). Soros controle positivo também

são usados para o controle interno da reação (como controle de qualidade do teste, para assegurar que o mesmo está funcionando dentro da normalidade). Além disso, como a absorvância das amostras é proporcional à quantidade de anticorpos no soro da amostra teste, um soro controle positivo pode ser usado para o cálculo de porcentagem de positividade, que oferece uma medida relativa (em relação ao controle positivo) da concentração de anticorpos na amostra, baseado na absorvância da amostra teste em relação à amostra controle positiva [PP = $(\bar{X}$ abs. amostra teste/ \bar{X} abs. controle positivo) x 100, onde PP = porcentagem de positividade; abs. = absorvância.

Assim, segundo Gaspar *et al.* (2015) todas as amostras cujo valor seja superior ao *cut off* será considerada positiva e a porcentagem de positividade em relação ao soro controle positivo razão entre absorvância da amostra teste em relação à amostra controle positiva multiplicado por 100.

O método de titulação por ELISA indireto é mais utilizado em pesquisa do que como método de diagnóstico, pois é mais trabalhoso e oneroso que o ensaio com apenas uma diluição das amostras teste. Neste caso, amostras de soro controle negativo e soros teste são diluídas de forma seriada em duplicata. Neste caso, o resultado é expresso como título, ou seja, inverso da última diluição em que os soros apresentaram absorvância maior que o *cut off*. Geralmente, este *cut off* é calculado empiricamente, como mencionado anteriormente. No entanto, ele deve ser obtido para cada uma das diluições do soro controle negativo.

Para interpretação, o valor da média das absorvâncias das amostras teste, em cada ponto de diluição, deve ser comparado ao *cut off*, até se determinar o *end point* (primeira diluição em que a média de absorvância da amostra teste é menor que o *cut off*). O título será o inverso da última diluição antes do *end point*. Nesse caso faz-se duas tabelas, sendo a primeira demonstrando os valores para controle negativo amostras em duplicata que servirá de base para obtenção da segunda tabela onde se obtém os o título de anticorpos de duas amostras (Gaspar *et al.*, 2015).

O método ELISA tem como vantagem o fato de apresentar melhor sensibilidade, especificidade, estabilidade dos reagentes e sistemas de detecção variados, sendo o mais comum entre os métodos imunoenzimático e substituindo outros métodos, cuja finalidade seja analisar as concentrações de proteínas/peptídeos em fluidos biológicos e mostrar reações antígeno-anticorpo auxiliando dessa forma no diagnóstico e monitoramento de diversas doenças (Silva, 2021), tornando-se um

ensaio valioso em elucidação de diagnósticos virais uma vez que ele fornece informações qualitativas e quantitativas a partir de amostras de sangue total, plasma ou soro (Vogl *et al.*, 2021; Oliveira *et al.*, 2022) podendo fornecer resultados quantitativos e maior precisão do que os LFAs, uma vez que permitem a amplificação do sinal enzimático que ocorre pois os anticorpos na amostra normalmente se ligam a antígenos de interesse imobilizados em uma superfície, e a quantidade de anticorpos ligados é detectada pela adição de um anticorpo de detecção ligado a enzima específico para o isotipo de interesse (por exemplo, IgG, IgM ou IgA) e a lavagem extensa entre as etapas de detecção reduz os sinais de fundo, removendo anticorpos ou antígenos que não se ligaram, tornando os ELISAs altamente precisos. Como desvantagens do método ELISA, Vogl *et al.* (2021) apontaram que esse método necessita de equipamentos de laboratório, pessoal treinado e um fluxo de trabalho mais longo.

2.4 RESPOSTA IMUNE INATA E ADAPTATIVA

A defesa contra microrganismos é mediada por respostas sequenciais e coordenadas que são denominadas imunidade inata e adaptativa (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019). Sendo tais respostas ativadas nas células do hospedeiro pela infecção, por meio da secreção de várias citocinas pró-inflamatórias, especialmente o fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), interferon-gama (IFN-gama) e interleucina tipo 6 (IL-6); e pela ativação de subconjuntos de células T, que são vitais para controlar a replicação viral e restringir a inflamação (Leal *et al.*, 2024).

A imunidade inata (também chamada de imunidade natural ou imunidade nativa) é essencial para a defesa contra microrganismos nas primeiras horas ou dias após a infecção, antes que as respostas imunes adaptativas tenham se desenvolvido. A imunidade inata é mediada por mecanismos que já existem antes da ocorrência de uma infecção (por isso inata) e que facilitam rápidas respostas contra microrganismos invasores (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019).

A primeira linha de mecanismo de defesa contra microrganismos em humanos é mediada pelo sistema imunológico inato. As células-chave do processo inflamatório incluem neutrófilos, macrófagos, células dendríticas e células natural killer (NK). Essas células utilizam mecanismos como proteínas de reconhecimento celular para identificar células estranhas e removê-las do corpo (Schmidt, 2023).

Os vírus de RNA, como os coronavírus, são detectados por meio de duas estratégias separadas. Na primeira estratégia, células imunológicas especializadas, como células dendríticas plasmocitóides (pDCs), detectam o RNA genômico viral de entrada no endossomo, portanto, fora da célula infectada, por meio do receptor Toll-like 7 (TLR7). Enquanto outros tipos celulares expressam TLR3 endossomal (células variadas) e TLR8 (células mielóides), que também podem reconhecer RNA de fita dupla endocitado (dsRNA) ou RNA de fita simples (ssRNA), respectivamente. Os macrófagos alveolares examinam o lúmen do trato respiratório e fornecem a primeira linha de defesa. A segunda estratégia envolve o reconhecimento viral dentro de células infectadas. Durante a replicação viral, intermediários de dsRNA podem ser reconhecidos por sensores de RNA citosólico, como RIG-I e MDA5, ou receptores semelhantes a RIG-I (RLRs). Após o envolvimento de TLRs e RLRs, a sinalização a jusante ativa a transcrição dependente de IRF3/IRF7 de interferons tipo I e tipo III (IFNs), bem como citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias dependentes do fator nuclear κ B (NF- κ B) (Merad *et al.*, 2022).

A imunidade inata parece ter papel central na defesa contra o SARS-CoV-2. Por meio dos receptores de reconhecimento padrão (PRR), como receptores Toll-like (TLR), receptores RIG-Like (RLR), NOD-like (NLR), entre outros, é feito o reconhecimento do padrão molecular viral. Dependendo do receptor estimulado, diferentes respostas biológicas do hospedeiro são desenvolvidas. O reconhecimento de antígenos virais pelos TLR, à exceção do TLR-3, é dependente da via Toll-MyD88, levando à transdução de sinal que envolve a ativação do fator de transcrição NF- κ B. Por outro lado, a ativação da via TLR-3 pela molécula adaptadora TRIF induz a produção de interferon tipo I (IFN Tipo I), que limita a replicação viral e aumenta a fagocitose pelos macrófagos e a atividade citotóxica pelas células NK (Brito *et al.*, 2020).

No entanto, independente da via de ativação, o reconhecimento culmina com a produção de citocinas pró-inflamatórias e mediadores químicos, com o objetivo de fornecer uma resposta antiviral efetiva. Diferentes células, monócitos e macrófagos, linfócitos e neutrófilos, migram para o epitélio pulmonar, na tentativa de conter o SARS-CoV-2. Quando essa tentativa de limitar a infecção é exacerbada, há efeitos oxidativos e inflamatórios inespecíficos que resultam em danos secundários aos tecidos funcionais e não infectados (Brito *et al.*, 2020).

Todavia, o SARS-CoV-2 é hábil em escapar do reconhecimento inato, sinalização, indução de IFN e genes estimulados por IFN (ISGs) por meio da expressão de uma série de proteínas virais que bloqueiam essas vias. Conseqüentemente, níveis mais baixos de IFN-I ou IFN-III são detectados nos pulmões ou no sangue periférico de indivíduos infectados por SARS-CoV-2 em comparação com outros vírus respiratórios (Merad *et al.*, 2022)

A ativação da via do INF limita a replicação vírica e induz a resistência de células não infectadas à infecção. Assim, alguns vírus como o SARS-CoV, embora sensíveis ao IFN, apresentam mecanismos de evasão à resposta antiviral do hospedeiro mediada pelo interferon (Silva *et al.*, 2020).

No caso do SARS-CoV 2, esta propriedade de evasão está associada à proteína NSP16, proteína não estrutural 16 (Nsp16), uma 2'-O-metiltransferase, desempenha um papel essencial na evasão imunológica. A Nsp16 consegue isso imitando seu homólogo humano, CMT1, que metila o mRNA para aumentar a eficiência da tradução e distinguir a si mesmo dos outros (Vithani *et al.*, 2021).

O SARS-CoV-2 interrompe o splicing (processo de maturação de um pré RNA-mensageiro com retirada de regiões não codificantes deixando somente as codificantes) do hospedeiro de vários genes para potencialmente silenciar as respostas antivirais de células infectadas. Após entrar em uma célula humana, o SARS-CoV-2 expressa a NSP16, que se transloca para o núcleo, onde se liga e sequestra os snRNAs U1 e U2 (RNAs não codificantes cuja associação permite o reconhecimento do ponto de corte 5' onde U1 se parecia reconhecendo-o) isso leva a uma interrupção no splicing, o que aumenta a expressão de transcritos que retêm íntrons, bem como outros transcritos improdutivos, como aqueles que contêm códons de parada prematuros e ORFs ausentes. Esses transcritos, ao contrário de suas contrapartes produtivas, não são traduzidos em proteínas canônicas no citoplasma e esse fenômeno afeta fortemente os genes envolvidos na resposta imune inata contra vírus, incluindo a resposta mediada por interferon. O SARS-CoV-2 induz a expressão predominante de isoformas de splicing improdutivas em genes-chave de sinalização de IFN, estimulados por interferon (ISGs), MHC de classe I e maquinaria de splicing, incluindo IRF7, HLA-B e HNRNPH1. Em contraste gritante, genes de citocina e quimiocina, como IL6 e TNF, expressam predominantemente isoformas de splicing produtivas (codificadoras de proteínas) em resposta à infecção por SARS-CoV-2. Com

isso, regula positivamente as isoformas de splicing improdutivas dos genes de apresentação de antígeno e resposta antiviral (Dias *et al.*, 2024).

Assim, nesse contexto, respostas imunes inatas induzidas pela sinalização PRR ativam células efectoras para mediar a depuração viral. As células NK, por exemplo, contribuem para detectar e eliminar células infectadas por vírus. No entanto, em pacientes com COVID-19 grave, as células NK são esgotadas do sangue e tornam-se disfuncionais como resultado do fator de crescimento transformador- β (TGF- β), que prejudica sua função antiviral. Os macrófagos alveolares, que desempenham um importante papel sentinela nos pulmões ao detectar e desencadear uma potente imunidade antiviral, são severamente esgotados nos pulmões de pacientes com doença grave. Em contraste com a defesa antiviral precoce prejudicada mediada por IFN-I e IFN-III, as citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias são significativamente elevadas (Merad *et al.*, 2022).

A imunidade adaptativa são respostas imunes estimuladas pela exposição a agentes infecciosos e que aumentam em magnitude e capacidades defensivas após cada exposição sucessiva a um microrganismo em particular. Uma vez que essa forma de imunidade se desenvolve em resposta à infecção e a ela se adapta, é denominada imunidade adaptativa (também chamada imunidade específica ou imunidade adquirida). O sistema imune adaptativo reconhece e reage a um grande número de substâncias microbianas e não microbianas chamadas antígenos. A imunidade adaptativa caracteriza-se pela especificidade memória e não reatividade ao próprio (autotolerância). Existem dois tipos de respostas imunes adaptativas, denominadas imunidade humoral e imunidade mediada por células, as quais são induzidas por diferentes tipos de linfócitos e atuam para eliminar diferentes tipos de microrganismos (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019). Desempenha um papel crítico na eliminação de patógenos, sendo constituída por Linfócitos citotóxicos (principalmente células T CD8 + citotóxicas), que podem eliminar células infectadas e anticorpos específicos contra SARS-CoV-2 presentes na resposta imune humoral com o potencial de neutralizar esse vírus ou até mesmo ajudar células T citotóxicas a eliminar células infectadas por vírus para controlar a progressão da doença (Zheng *et al.*, 2022)

A imunidade mediada por células, também denominada imunidade celular, é mediada pelos linfócitos T. Muitos microrganismos são ingeridos, mas sobrevivem dentro dos fagócitos, e alguns, particularmente os vírus, infectam e se replicam em diversas células do hospedeiro. Nesses locais, os microrganismos são inacessíveis

aos anticorpos circulantes. A defesa contra tais infecções é uma função da imunidade mediada por células, a qual promove a destruição de microrganismos dentro dos fagócitos e a morte das células infectadas para eliminar os reservatórios da infecção. Os linfócitos T, células da imunidade celular, reconhecem os antígenos dos microrganismos associados às células e diferentes tipos de células T auxiliam os fagócitos a destruir esses microrganismos ou matar as células infectadas (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019).

Assim, as células T têm um papel antiviral importante, particularmente os linfócitos T CD4+ e T CD8+. As células T CD8+ têm função citotóxica direta contra células infectadas pelo vírus, enquanto as células T CD4+ são cruciais na estimulação da imunidade mediada por anticorpos, na preparação de células T CD8+ e na produção de citocinas (Silva *et al.*, 2020).

Usando o modelo de SARS-CoV, todas as células T de memória são dirigidas contra proteínas estruturais do vírus e existe alguma evidência de que a resposta mediada por células T às proteínas S, M e N é duradoura e persistente. No entanto, no que se refere à infecção por SARS-CoV-2 pouco se sabe quanto à especificidade e à duração da imunidade mediada por células T (Silva *et al.*, 2020).

Outro tipo de células importantes são as células apresentadoras de antígenos (macrófagos, células dendríticas), presentes nos tecidos infectados, que funcionam como ponte entre a imunidade inata e a imunidade adquirida, uma vez que são responsáveis por apresentar peptídeos víricos aos linfócitos. Na infecção por SARS-CoV, uma vez ativadas, os linfócitos T CD4+ expressam IFN γ , TNF α e IL-2, sugerindo uma resposta do tipo Th1, ou seja, mediada por células (Silva *et al.*, 2020).

Portanto, na imunidade adquirida, observa-se que, após entrada do vírus na célula-alvo, peptídeos virais são apresentados pelo complexo principal de histocompatibilidade (MHC) ou antígeno leucocitário humano (HLA) classe I aos linfócitos T CD8+, que exercem sua função citotóxica, levando à morte celular por apoptose da célula infectada. A apresentação de antígenos virais também pode ser mediada por células apresentadoras de antígenos por meio das moléculas de MHC classe II, promovendo a ativação de células T CD4+ (apresentação cruzada). Isso resultará na produção e liberação de interleucina IL-12, citocina que atuará coestimulando a produção de linfócitos com perfil Th1 que são responsáveis pela defesa contra patógenos intracelulares (Brito *et al.*, 2020).

A IL-12, juntamente com o IFN- α , aumenta a expressão do MHC classe I e a ativação das células NK, o que permite a atuação dos mecanismos antivirais e a erradicação das células infectadas pelo SARS-CoV-2. Paralelamente a esses eventos, ocorre uma grande produção de citocinas, as quais recrutam neutrófilos e monócitos para o sítio de infecção e ativam várias outras citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, IL-8, IL-21, fator de necrose tumoral (TNF)- β e proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1) (Brito *et al.*, 2020).

Além disso, as células T são profundamente esgotadas da circulação sanguínea de pacientes com doença grave em comparação com pacientes com doença moderada, o que sugere que a indução de células T efetoras adaptativas capazes de limpar células infectadas por vírus é provavelmente prejudicada em pacientes graves (Merad *et al.*, 2022).

Na maioria dos doentes, as células recrutadas eliminam a infecção e a resposta imune recua de forma controlada. No entanto, em alguns casos, este recrutamento celular resulta em infiltração pulmonar por células do sistema imune, desencadeando a produção exagerada de citocinas pró-inflamatórias e a consequente lesão pulmonar, bem como disfunção multiorgânica pelos efeitos sistêmicos destas proteínas, este é fenômeno que chamado de tempestade de citocinas ou síndrome de liberação de citocinas (Silva *et al.*, 2020). A replicação ativa do SARS-CoV-2 e a sua liberação causam a piroptose das células hospedeiras infectadas e a consequente liberação de moléculas associadas ao dano. Estas moléculas são reconhecidas como sinais de perigo por células epiteliais, endoteliais e pelos macrófagos alveolares, levando à produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-10, IFN γ , MIP 1 α e 1 β , MCP 1, IP-10). Estas proteínas recrutam leucócitos (predominantemente células T e monócitos) ao local de infecção (Schmidt, 2023).

A tempestade de citocinas, também conhecida como hiperce-tonemia ou ainda síndrome de liberação de citocinas, ocorre em um subgrupo de pacientes em estado grave que evoluem para SDRA deflagra no hospedeiro uma resposta hiperinflamatória, responsável pela disfunção orgânica observada nesses pacientes. Sabe-se que essa hiperativação imunológica ocorre quando as células efetoras, principalmente NK e linfócitos T CD8+, não são capazes de eliminar as células infectadas e, conseqüentemente, os antígenos, resultando em uma persistência destes, que levam à produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, TNF- α , fator de crescimento transformante

(TGF)- β , fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) e quimiocinas, como CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9, CXCL10, IP-10 (Brito *et al.*, 2020).

Uma outra característica evidenciada nos pacientes graves foi a presença de níveis elevados das citocinas IL-6, IL-10 e TNF- α durante a terceira fase da doença (8^o ao 10^o dia) e sua respectiva diminuição durante o processo de recuperação. O papel dessas citocinas no processo inflamatório aponta que os pacientes que necessitam de internação em unidade de terapia intensiva (UTI) apresentam níveis significativamente mais elevados de IL-6, IL10 e TNF- α e menor quantidade de linfócitos T CD4+, T CD8+ e linfócitos T reguladores (Treg). Assim, o aumento dos níveis séricos dessas citocinas associados a linfopenia podem indicar formas mais graves da Covid-19 (Brito *et al.*, 2020).

Assim, na COVID-19, a exaustão de células T e a redução da sua diversidade funcional prediz doença grave, pois células T são profundamente esgotadas da circulação sanguínea de pacientes com doença grave em comparação com pacientes com doença moderada, o que sugere que a indução de células T efetoras adaptativas capazes de limpar células infectadas por vírus é provavelmente prejudicada em pacientes graves (Merad *et al.*, 2022).

Imunidade adaptativa do tipo Humoral: Linfócitos B que reconhecem antígenos proliferam e se diferenciam em plasmócitos que secretam diferentes classes de anticorpos com funções distintas (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019). A imunidade humoral específica do SARS-CoV-2 desempenha um papel crítico na defesa antiviral ao fornecer anticorpos recém-produzidos a partir de células plasmáticas ativadas. Essa imunidade humoral específica para vírus pode ser induzida pela infecção por SARS-CoV-2 ou por vacina (Zheng *et al.*, 2022).

As células B de centros germinativos ao serem estimuladas por antígenos SARS-CoV-2 proliferam e se diferenciam em células plasmáticas, produzindo e secretando anticorpos específicos para controlar a replicação viral, enquanto vírions também podem modular diretamente a imunidade específica do hospedeiro ao infectar células imunes, como monócitos pulmonares e macrófagos, que expressam o receptor viral ACE2 (Zheng *et al.*, 2022).

Esses anticorpos podem estar presentes no sangue ou serem produzidos de novo por células B de memória e células plasmáticas após reexposição a antígenos virais. Assim, a imunidade humoral específica do SARS-CoV-2 desempenha um papel

crítico na defesa antiviral ao fornecer anticorpos recém-produzidos a partir de células plasmáticas ativadas (Zheng *et al.*, 2022).

Quando ocorre Infecção por SARS-CoV-2, este invade células hospedeiras por endocitose e ocorre fusão de membrana para entrada viral por meio da ligação da glicoproteína *Spike* viral (S) ao receptor viral ACE2. Em seguida, o SARS-CoV-2 é processado por APCs, expondo seus epítomos ocultos. Posteriormente, as APCs apresentam antígenos virais para células Th, seguidos por ativação e secreção de linfocina e ativação de células (Zheng *et al.*, 2022).

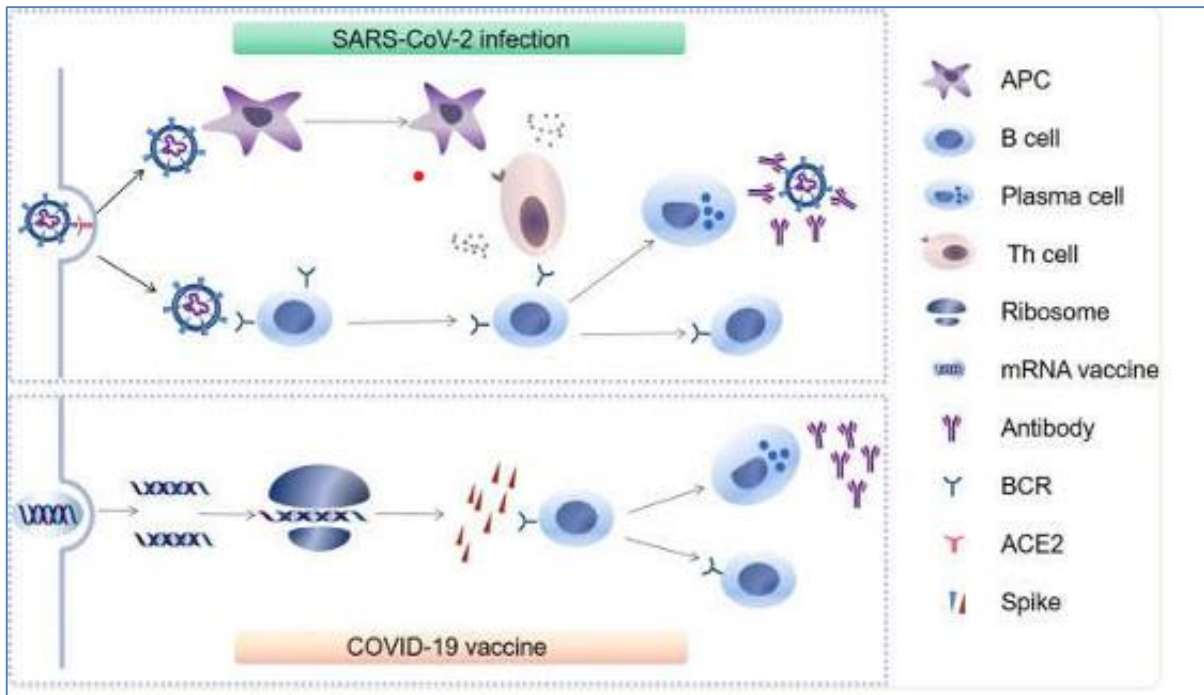
Os antígenos virais também podem estimular diretamente as células B, cuja maioria prolifera e se diferencia em células plasmáticas para produzir anticorpos específicos contra SARS-CoV-2. No entanto, simultaneamente, uma pequena proporção de células B se desenvolve em células B de memória específicas para SARS-CoV-2 (Zheng *et al.*, 2022).

Após a reinfecção por SARS-CoV-2, essas células B de memória específicas para o vírus podem ser rapidamente transformadas em células plasmáticas que produzem anticorpos específicos, (principalmente anticorpos neutralizantes) capazes de neutralizar o SARS-CoV-2 e bloquear a interação entre a proteína *Spike* e a ACE2 (Zheng *et al.*, 2022).

Quando a imunidade é induzida pela Vacina SARS-CoV-2; após a inoculação, uma vacina de mRNA que codifica a proteína S relevante encapsulada por nanopartículas lipídicas entra em uma célula, e a proteína S é sintetizada pelos ribossomos. Posteriormente, as células B são estimuladas pela proteína S a proliferar e se diferenciar em células B plasmáticas e de memória específicas. Finalmente, as células plasmáticas produzem grandes quantidades de anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2, que podem desempenhar um papel protetor na reinfecção viral (Zheng *et al.*, 2022) (Figura 11).

A imunidade humoral é impulsionada por células B que secretam anticorpos para proteger o corpo de microrganismos, tanto de forma imediata como no longo prazo. O evento cardinal envolve receptores nas células B que se ligam a um antígeno. Esta ligação promove ativação e diferenciação em células mais especializadas. O processo de maturação antígeno-dependente do timo leva as células B a assumirem funções mais específicas. A ligação desses antígenos extrínsecos ativa as células T auxiliares que ativam as células B para secretar tipos específicos de anticorpos (Schmidt, 2023).

Figura 11 – Mecanismo de imunidade humoral produzida por infecção natural ou vacina



Fonte: Zheng *et al.* (2022).

Semelhante às infecções virais agudas comuns, o SARS-CoV-2 possui um padrão típico de produção de anticorpos, de modo que a resposta humoral inicial é mediada por imunoglobulinas da classe M (IgM) seguida pela produção de imunoglobulinas da classe G (IgG) (Brito *et al.*, 2020). No entanto, pode haver até três tipos de soroconversão: soroconversão síncrona de IgG e IgM, soroconversão de IgM que ocorreu antes da soroconversão de IgG e soroconversão de IgM que ocorreu depois da soroconversão de IgG (Zheng *et al.*, 2022).

A soroconversão de anticorpos IgM posteriormente à de IgG acontece em 38,5% dos pacientes diagnosticados com a COVID-19. Isso implica diretamente nos resultados dos testes rápidos que detectam separadamente a presença de IgM e IgG. Indivíduos sintomáticos que apresentam apenas IgG positivo e IgM negativo podem interpretar falsamente o resultado como curado, quando, na verdade, representam

potenciais disseminadores do vírus, uma vez que se encontram infectados na fase aguda (Brito *et al.*, 2020).

Os anticorpos IgM e IgG já podem ser detectados no 9º dia após o aparecimento dos sintomas. A partir desse período, os títulos de IgM e IgG se elevam de forma exponencial, alcançando títulos iguais ou acima de 1:320 ou 1:1.280, respectivamente, no 20º dia (Brito *et al.*, 2020).

Os títulos de IgM e IgG tendem a ser estáveis dentro de 6 dias após a soroconversão que ocorre dentro de 20 dias do início dos sintomas enquanto a proporção de pacientes positivos para IgG específica para o vírus é de aproximadamente 100% dentro de 17-19 dias do início dos sintomas, a IgM atinge o pico de 94,1% aproximadamente 20-22 dias após o início dos sintomas. O tempo médio de soroconversão de IgG e IgM foi de 13 dias após o início dos sintomas (Long *et al.*, 2020).

A detecção de IgA apresenta a maior sensibilidade durante cerca de 4-25 dias após o início da doença e os níveis medianos de IgA específica para RBD começam a diminuir após o pico durante 16-20 dias após o início da doença, mas permanecem em níveis relativamente altos até 31-41 dias, indicando que a IgA é poderosa para diagnósticos em estágios iniciais e posteriores (Ma *et al.*, 2020)

Embora os estudos apresentem pequenas divergências em relação ao momento de detecção dos anticorpos no sangue periférico, observa-se que a produção de anticorpos é lenta em relação ao momento do contágio (Brito *et al.*, 2020). No entanto, o valor máximo de anticorpos específicos dentro de 6-20 dias é significativamente maior em pacientes com doença grave do que naqueles com sintomas leves (Zheng *et al.*, 2020).

Pacientes com COVID-19 grave, após o início dos sintomas, apresentam um aumento significativo na produção de anticorpos IgG e IgA séricos específicos para proteína S do SARS-CoV-2 com títulos de IgA séricos muito altos correlacionados com síndrome do desconforto respiratório agudo grave (Cervia *et al.*, 2021). Sendo então a imunoglobulina da classe A (IgA) tem sido descrita como um marcador precoce de infecção respiratória aguda por SARS-CoV-2, apresentando também alta capacidade de neutralização viral (Medeiros *et al.*, 2021).

Estudos com anticorpos e células imunes são essenciais para o desenvolvimento de uma vacina eficaz; os anticorpos inicialmente possuem ligações monovalentes e são de baixa afinidade e avidéz (IgM), com o passar dos dias,

semanas e meses esses anticorpos amadurecem, gerando uniões multivalentes produzindo maturidade, maior afinidade e avidéz (IgG). Portanto, os anticorpos produzidos inicialmente são IgM de alto peso molecular com baixa afinidade, enquanto os anticorpos produzidos posteriormente são de menor peso molecular, IgG com maior afinidade (Schmidt, 2023). Evidências sugerem que anticorpos IgM contra o SARS-CoV-2 duram em torno de 12 semanas, enquanto os anticorpos IgG permanecem, até onde se sabe, por longos períodos na corrente sanguínea, mas em baixas quantidades (Brito *et al.*, 2020).

2.5 VACINAS

Os vírus são parasitos intracelulares obrigatórios e, por isso, dependem de uma célula que forneça todo o maquinário celular para que eles possam replicar. O ciclo replicativo do SARS-CoV-2 não difere de outros vírus da mesma família, e objetiva a produção de progênes virais que poderão infectar outras células suscetíveis. Para impedir que essas progênes virais sejam produzidas, as vacinas podem atuar em alguma das etapas do ciclo replicativo do vírus (Silva *et al.*, 2021b).

Para o desenvolvimento das vacinas contra COVID-19, os pesquisadores elencaram, dentre as proteínas do SARS-CoV-2, também chamadas de antígenos virais, aquelas que seriam capazes de estimular uma resposta imune mediada por linfócitos T (LT); e, suas subpopulações, e linfócitos B (Silva *et al.*, 2021b).

A proteína *Spike* (S) foi selecionada por quase todas as plataformas de vacinas contra COVID-19, uma vez que anticorpos direcionados a esta proteína neutralizam o SARS-CoV-2, impedindo-o de adsorver às células susceptíveis à infecção pelo vírus, como as células do trato respiratório superior (células caliciformes e produtoras de muco), os pneumócitos tipo II, os enterócitos e as células endoteliais. A proteína *Spike* (S) liga-se ao receptor da ECA-2 presente na superfície destas células e, posteriormente, é clivada pela TMPRSS2 em duas partes: S1 e S2, permitindo que o SARS-CoV-2 entre na célula e inicie a replicação viral (Silva *et al.*, 2021b).

O princípio básico da vacinação consiste na administração de um microrganismo vivo atenuado ou morto, inteiro ou subunidades do microrganismo, que seja capaz de estimular uma resposta imune, impedindo que o indivíduo vacinado adoça, caso ele entre em contato com o microrganismo futuramente (Silva *et al.*, 2021b).

Todas as vacinas SARS-CoV-2 atualmente licenciadas são administradas por via intramuscular, levando a um aumento nos anticorpos séricos e proteção contra doenças graves e morte devido à COVID-19, mas não à proteção de longo prazo contra a infecção. Os níveis de anticorpos circulantes gerados após a vacinação diminuem ao longo do tempo, mas podem ser elevados por uma dose de reforço. Além disso, as vacinas atualmente disponíveis foram desenvolvidas contra a cepa ancestral SARS-CoV-2 usando a proteína *Spike* do primeiro vírus sequenciado e o grau de proteção contra doenças graves contra outras variantes genéticas demonstrou variar. Além disso, a vacinação leva à indução limitada de anticorpos neutralizantes nas superfícies mucosas, o que pode ter um papel na mitigação da replicação do vírus e na prevenção de doenças mais pronunciadas (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Os tipos de vacinas compreendem, de acordo com a natureza do antígeno utilizado para a produção da vacina, microrganismo morto, inteiro ou partes dele, ou microrganismo vivo atenuado, e classificam-se em vacinas inativadas (mortas) ou vacinas vivas (atenuadas), respectivamente (Silva *et al.*, 2021b).

Vale destacar, as novas tecnologias de vacinas inativadas que utilizam vetores virais e estratégias de engenharia genética. No citoplasma celular do indivíduo vacinado, são produzidas as proteínas ou os antígenos vacinais que são, posteriormente, apresentados para as células apresentadoras de antígenos, deflagrando a resposta imune. Enquanto as vacinas vivas atenuadas são produzidas a partir do microrganismo vivo, as vacinas inativadas são produzidas a partir do microrganismo morto, inteiro ou a partir de proteínas, polissacarídeos, ácido nucléico ou toxóides deste microrganismo (Silva *et al.*, 2021b).

As vacinas vivas atenuadas são produzidas a partir da modificação de um microrganismo patogênico, via atenuação da virulência de um vírus ou bactéria. Os processos de atenuação, tradicionalmente, se baseiam na passagem do microrganismo por repetidas culturas, em diferentes condições de temperatura, selecionando populações mutantes menos virulentas. Para ser eficaz e conseguir estimular o sistema imune no indivíduo vacinado, o microrganismo atenuado precisa se replicar, sendo mantida a sua habilidade de replicação, porém é eliminada a capacidade de gerar doenças. A dose aplicada é, em geral, pequena, e as células de defesa somente conseguem identificar a bactéria ou vírus após a sua replicação, quando então atingem quantidade suficiente para serem detectados. A resposta imune estimulada pela vacina viral viva-atenuada é a mesma desencadeada por uma

infecção viral natural, e pelo fato de os vírus serem microrganismos intracelulares (endógenos), são recrutados linfócitos T CD8+ citotóxicos (Tc), e linfócitos Th1, responsáveis pela resposta imune celular específica. Caso o antígeno seja encontrado disperso no tecido, linfócitos Th2 conseguem identificá-lo e desencadear a diferenciação de linfócitos B em plasmócitos secretores de anticorpos e em linfócitos B de memória. O mesmo não acontece com vírus inativados, uma vez que esses são reconhecidos como antígenos exógenos e estimulam apenas resposta de linfócitos Th2 e linfócitos B (Chagas *et al.*, 2019).

As vacinas inativadas são menos imunogênicas do que as vacinas vivas atenuadas e, por isso, geralmente são necessárias doses de reforço após intervalos pré-estabelecidos para que essas vacinas confirmem proteção ao indivíduo vacinado. Além disso, as vacinas inativadas quase sempre utilizam adjuvantes, compostos responsáveis pela otimização da resposta imune do indivíduo vacinado frente ao imunógeno (Silva *et al.*, 2021b).

Antígenos inativados não são capazes de se replicar no indivíduo vacinado e, por isso, as vacinas deste tipo devem conter uma quantidade maior de antígenos quando comparadas com as vacinas vivas, para que consigam estimular o sistema imune. Muitas vezes, é necessária a adição de adjuvantes, substâncias que incrementam a resposta imune. Nesse cenário, vírus e bactérias inativadas são identificados pelo sistema imune como organismos exógenos, estimulando o mesmo tipo de resposta imune. São ativados linfócitos Th2, que estimulam a diferenciação dos linfócitos B em plasmócitos, prevalecendo uma resposta baseada em anticorpos. Esse processo leva de cinco a 14 dias para acontecer. Porém, em exposição subsequente, há ativação dos linfócitos B de memória, e a resposta imune secundária de anticorpos IgG atinge o pico de produção em três dias (Chagas *et al.*, 2019).

Nas vacinas inativadas, o antígeno vacinal pode ser proteico ou polissacarídeo, sendo a resposta imunológica dependente do tipo de antígeno. A resposta imune aos antígenos vacinais proteicos depende do reconhecimento desse antígeno pelos Linfócitos T CD4+ que, por sua vez, serão responsáveis pela estimulação da diferenciação e expansão clonal dos linfócitos B. As proteínas são comumente chamadas de antígenos T-dependentes e são capazes de estimular a proliferação e diferenciação de LT CD4+ efetores, essenciais para a memória imunológica (Chagas *et al.*, 2019). Os antígenos de vacinas de polissacarídeos, por sua vez, estimulam somente a resposta imune humoral independente de células T, uma vez que os

linfócitos T CD4+ não reconhecem antígenos polissacarídeos. Nesse caso, o antígeno vacinal, também chamado de T-independente, é apresentado diretamente às células B, sem o intermédio dos linfócitos T e, conseqüentemente, não ocorre a proliferação e diferenciação de linfócitos T CD4+ efetores, essenciais para a memória imunológica (Silva *et al.*, 2021b).

Se os antígenos forem proteicos, a iniciação de respostas imunes dependentes de célula T requer que sejam administrados com adjuvantes que em sua maioria deflagram respostas imunes inatas, com expressão aumentada de coestimuladores e produção de citocinas, como a IL-12, que estimulam o crescimento e diferenciação da célula T (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019).

Outra característica das vacinas inativadas é a necessidade de mais de uma dose. A primeira dose apenas sensibiliza o organismo; enquanto a segunda e/ou terceira desenvolvem uma resposta imune protetora. Pelo fato de a resposta imune ser predominantemente humoral, é necessário alto título de anticorpos circulantes para que se consiga proteção. Por esse motivo, muitas vezes são necessários reforços vacinais periódicos para garantir proteção. Ainda, por desencadear resposta imune mais fraca, é importante o uso de adjuvantes para melhorar a resposta imune e aumentar o tempo de duração da proteção (Chagas *et al.*, 2019).

Os adjuvantes são substâncias que potencializam a resposta imunológica, podendo ser compostos naturais ou sintéticos. Seu uso é particularmente importante quando o antígeno possui baixa imunogenicidade, que é o caso das vacinas que contêm microrganismos inativados ou apenas seus componentes. Por conter um adjuvante, a vacina provoca resposta imune mais intensa, duradoura e rápida, mesmo com pequena quantidade de antígenos (Neves; Kfoury; Robial, 2021).

Os adjuvantes atuam no aumento da resposta imune adaptativa através da modulação ou aumento dos sinais envolvidos na ativação da imunidade inata (Chagas *et al.*, 2019). Considera-se que a melhor resposta imunológica conferida pelos adjuvantes seria devido a estes produzirem inflamação local, aumentando o contato do antígeno com as células relacionadas ao sistema imune. Os adjuvantes mais frequentemente utilizados são hidróxido de alumínio e fosfato de alumínio, embora fosfato de cálcio e emulsões em óleo também sejam usados. Por outro lado, tais substâncias, em geral, podem causar reações de hipersensibilidade e alergias (Neves; Kfoury; Robial, 2021).

Em relação as plataformas de vacinas inativadas contra a COVID-19 todas utilizadas na produção de vacinas partem de um princípio único, em que a criação ocorre por meio da exposição de um ser vivo a fragmentos de vírus que provocam uma reação imune, menos a infecção (Melo, 2024). Até o momento as plataformas utilizadas para a produção das vacinas contra COVID-19 são vetor viral, vírus inativado ou morto, vacinas genéticas de RNA mensageiro e subunidade de proteína (Quadro 7) (Silva *et al.*, 2021b).

Quadro 7 – Principais plataformas utilizadas para produção de vacinas

Plataforma	Características	Vacinas	País de Origem
Mrna	As vacinas de mRNA utilizam uma tecnologia inovadora que consiste em fornecer ao corpo uma molécula de RNA mensageiro contendo informações genéticas específicas para a produção da proteína Espícula do vírus SARS-CoV-2. O RNA mensageiro das vacinas é absorvido pelas células do corpo, que começam a produzir a proteína Espícula do vírus. Essa proteína desencadeia uma resposta imune, estimulando a produção de anticorpos e a ativação das células imunológicas.	Pfizer-BioNTech, Moderna	Estados Unidos
Vetor Viral	Os vírus são usados nestas vacinas como vetores de genes que produzem uma proteína antigênica específica (proteína Espícula). A proteína Espícula é produzida por células humanas após serem estimuladas por vacinas contendo vírus geneticamente modificados, isso leva a uma resposta imune específica.	Oxford-AstraZeneca, Johnson & Johnson/Janssen	Reino Unido, Estados Unidos
Vírus Inativado	As vacinas de vírus inativado utilizam o próprio vírus SARS-CoV-2, responsável pela COVID-19, que foi previamente inativado ou destruído. Isso significa que o vírus não é capaz de causar a doença, mas ainda assim estimula o sistema imunológico a produzir uma resposta de defesa.	Sinovac (CoronaVac), Sinopharm	China
Unidades Proteicas	As vacinas de unidades proteicas utilizam partes específicas do vírus SARS-CoV-2, como a proteína Espícula, que é a proteína utilizada pelo vírus para se ligar às células humanas. Em vez de usar o vírus inteiro, apenas a porção selecionada é produzida e utilizada na vacina.	Novavax	Estados Unidos

Fonte: Melo (2024).

Independentemente da plataforma adotada pela vacina, é recomendado estabelecer o intervalo mínimo de 14 dias entre a vacina contra a COVID-19 e outras vacinas. Isto se deve à escassez de estudos que avaliam a segurança e a possível

interferência na resposta imune da vacina contra COVID-19, quando outras vacinas são administradas concomitantemente, aliado ao fato de que o intervalo de 14 dias assegura que, caso seja notificado algum evento adverso após a administração das vacinas contra a COVID-19, este não seja confundido com o evento adverso de outra vacina administrada em conjunto ou com intervalo inferior a 14 dias (Silva *et al.*, 2021b). Assim, a recomendação do PNI é que não haja coadministração, ou seja, a administração simultânea de vacinas contra a COVID-19 e contra outras doenças. Após receber a imunização contra o vírus SARS-CoV-2, é preciso aguardar 14 dias antes de tomar outras vacinas, da mesma forma, após tomar uma vacina como a da *influenza* ou Hepatite A ou B é necessário aguardar 14 dias para só então se imunizar contra COVID-19. Esse período é importante para que o organismo tenha tempo de produzir os anticorpos necessários e evita a sobrecarga do sistema imunológico. Além disso, o intervalo de 14 dias também ajuda no monitoramento da ocorrência de reações adversas após a vacinação e deverá ser reconsiderado somente em situações de urgência, como a administração de soros antiofídicos ou vacina antirrábica para profilaxia pós exposição (Instituto Butantan, 2020).

Relacionado a plataforma das vacinas de RNA mensageiro (RNAm) (Quadro 8), a primeira etapa para sua produção consiste na identificação da sequência de nucleotídeos que, ao ser traduzida, será responsável pela codificação da proteína *Spike*. A partir desta sequência, o RNAm é sintetizado em laboratório e, posteriormente, é revestido por uma nanopartícula lipídica que tem a função de proteger o RNAm da degradação por enzimas que estão presentes nos tecidos e fluidos do indivíduo vacinado. No citoplasma celular do indivíduo vacinado, o RNAm é traduzido em proteína *Spike*. A expressão das proteínas *Spike* na superfície dessas células e o reconhecimento destas proteínas pelas células apresentadoras de antígenos, dá início à resposta imune (Silva *et al.*, 2021b; Costa, 2024). Como exemplos pode-se citar a vacina *Comirnaty*™ (*Pfizer/Biontech*) e Moderna.

Já a plataforma de vacinas de vetores virais (Quadro 9) utiliza um vírus geneticamente modificado que funciona como um sistema de entrega de uma sequência do material genético do SARS-CoV-2. Os adenovírus, responsáveis por resfriados comuns em humanos e outros mamíferos, podem ser submetidos a estratégias de engenharia genética e utilizados como vetores, apresentando como vantagem o amplo tropismo celular e a capacidade de infectarem células independentemente de estarem em mitose. A maioria das plataformas que utilizam

essa tecnologia selecionaram o trecho do material genético do SARS-CoV-2 que é responsável pela expressão da proteína *Spike* (S). No interior das células do indivíduo vacinado, a proteína *Spike* é transcrita e, posteriormente, é expressa na membrana celular, estimulando o seu reconhecimento pelas células do sistema imune (Silva *et al.*, 2021b).

Quadro 8 – Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vacinas de RNA mensageiro (RNAm)

Nome da vacina / laboratório produtor	RNAm responsável pela expressão da seguinte proteína	Esquema vacinal	Eficácia	Eventos adversos
Comirnaty™ vacina COVID-19/ Pfizer/ Biontech	Proteína <i>Spike</i> (S) ⁽²¹⁾	2 doses, com intervalo de 3 semanas ⁽²⁹⁾ .	Eficácia geral de 95% ⁽³⁰⁾	Quanto aos eventos adversos pós-vacinais sistêmicos, prevaleceram aqueles classificados como muito comuns, ou seja, aconteceram na proporção de 1 para cada 10 pessoas vacinadas: cefaleia, diarreia, artralgia e mialgia ⁽³⁰⁾ . Quanto às alterações no local da aplicação da vacina, foram apontadas a dor, fadiga, arrepios, piroxia e inchaço ⁽³⁰⁾ .
CVnCoV/ CUREVAC⁽³⁴⁾	Proteína <i>Spike</i> (S) ⁽³⁴⁾	2 doses, com intervalo de 4 semanas ⁽³⁴⁾ .	Dados não divulgados ⁽³⁴⁾ .	Dados não divulgados ⁽³⁴⁾
mRNA-1273 / Moderna	Proteína <i>Spike</i> (S) ⁽³⁰⁾	2 doses, com intervalo de 4 semanas ⁽³⁰⁾ .	Eficácia de 94.1% (IC _{95%} = 89.3 - 96.8%; p<0.001) ⁽³⁵⁾ . Ensaios clínicos de Fase I / II: indivíduos imunizados com duas doses apresentaram resposta imune específica com alta titulação de anticorpos neutralizantes contra o SARS-CoV-2 e forte resposta celular (LT CD8 ⁺ e LT CD4 ⁺ pela via Th1) ⁽³⁰⁾ .	Prevaleceram os seguintes eventos adversos locais: dor, eritema e edema e sistêmicos: dor de cabeça, fadiga e mialgia ⁽³⁵⁾ .

Fonte: adaptado de Silva *et al.* (2021b).

Referente a plataforma de vacinas com vírus inativado ou morto (Quadro 10), essas são produzidas a partir da inoculação do agente infeccioso em cultivo celular seguida da inativação física e/ou química. Para a produção das vacinas contra COVID-19 utilizando essa tecnologia, inicialmente, o SARS-CoV-2 é inoculado em um cultivo de células e após o período de incubação necessário para que ocorra a adsorção, replicação e produção de progênes virais em larga escala (*in vitro*), o SARS-CoV-2 é submetido ao processo de inativação química. A inativação do SARS-CoV-2 é realizada a fim de impedir que o indivíduo adoça após a administração da vacina. Contudo, mesmo após a inativação, a partícula viral é mantida íntegra, favorecendo a ativação do sistema imune. As vacinas inativadas são mais seguras do que as vacinas que utilizam vírus vivo atenuados, por exemplo. No entanto, patógenos inativados podem falhar na indução de respostas adaptativas celulares, sendo necessária a adição de adjuvantes. De forma geral, essa vacina ativa monócitos, e estes produzem o Interferon (IFN), citocina responsável pela proliferação de LT CD4+ que, por sua vez, ativam os linfócitos B, responsáveis pela secreção de anticorpos neutralizantes que atuarão bloqueando a infecção pelo SARS-CoV-2. Os linfócitos T citotóxicos, (LT CD8+), também podem ser ativados, promovendo a morte de células infectadas com o vírus (Silva *et al.*, 2021b).

Quadro 9- Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vetor viral

Nome da vacina / laboratório produtor	Vetor viral	Esquema vacinal	Eficácia
Vacina COVID-19 (recombinante) / Instituto de Tecnologia Em Imunobiológicos Bio-Manguinhos / Fiocruz²	Adenovírus símio (ChAd)	2 doses, com intervalo de 3 meses.	70.4%
Covidencia/ CanSino Biological	Adenovírus humano sorotipo 5 (Ad5)	Dados não divulgados.	Dados não divulgados.
Sputnik V/Instituto Gamaleya	Adenovírus humano sorotipo 26 (Ad26) e Adenovírus humano sorotipo 5 (Ad5)	2 doses – 1 dose com Ad26 e outra com Ad5 - intervalo de 21 dias	91.4%
Jansen da Companhia / Johnson & Johnson	Adenovírus humano sorotipo 26 (Ad26)	1 dose	Eficácia geral 66,1%

Fonte: Adaptado de Silva *et al.* (2021b).

Quadro 10 – Características das principais vacinas contra a COVID-19 que utilizam a plataforma de vacinas inativadas.

Nome da vacina (laboratório produtor)	Cepa do vírus Inativado + adjuvante	Esquema vacinal	Eficácia	Eventos adversos
SARS-CoV-2 Vaccine/ PiCoVacc/ Coronavac (Sinovac, China/Instituto Butantan)	CN2 de SARS-CoV-2, isolada do lavado broncoalveolar de pacientes internados, e tem relação com a cepa 2019-nCoV-BetaCoV/WIV04/2019, identificada em Wuhan ⁽³⁶⁾ Adjuvante: Hidróxido de Alumínio ⁽³⁶⁾	Aplicação intramuscular de 2 doses, com intervalo entre 14 a 28 dias (os estudos de fase 2 indicam uma melhor resposta imunológica com intervalo de 28 dias) ⁽³⁶⁾	Brasil: 50,35% em prevenir a infecção sintomática, 78% na prevenção de casos leves que requerem tratamento e 100% de prevenção de casos graves ^(35,36) Turquia: 83,5% em prevenir a infecção sintomática ⁽³⁵⁾ Indonésia: 65,3% em prevenir a infecção sintomática ⁽³⁵⁾	Dor no local da injeção, náusea, diarreia, cefaleia, fadiga, mialgia, tosse, artralgia, prurido, rinorreia, congestão nasal, prurido, eritema, edema local e enduração. Todos esses eventos foram leves ou moderados ^(36, 37)
COVAXIN/ BBV152 (Bharat Biotech, Índia)	NIV-2020-770 de um paciente com COVID-19 identificada na Índia pelo Instituto Nacional de Virologia do país ⁽³⁵⁾ Adjuvante: hidróxido de alumínio e imidazoquinolina ⁽³⁵⁾	Aplicação intramuscular de 2 doses, com intervalo de 28 dias ⁽³⁸⁾	80.6% (Resultados preliminares divulgados na mídia pela empresa Bharat Biotech em março de 2021)	Dor no local da injeção, cefaleia, fadiga, febre e náuseas ou vômitos. Todos esses eventos foram leves ou moderados ⁽³⁷⁾
SARS-CoV-2 Vaccine Vero Cell/BBIBP-CorV* (Sinopharm/ Wuhan em parceria com a Beijing Bio-Institute of Biological Products Co-Ltd (BIBP)/ Beijing)	SARS-CoV-2 19nCoV-CDC-Tan-HB02 Adjuvante: hidróxido de alumínio ^(35,39)	Aplicação intramuscular de 2 doses, com intervalo de 21 a 28 dias ⁽³⁹⁾	79.34% (Resultados preliminares divulgados na mídia pela empresa Sinopharm.)	Febre, fadiga, inapetência, náusea, constipação, anormalidades mucocutâneas, cefaleia e prurido ⁽²⁶⁾

Fonte: adaptado de Silva *et al.* (2021b).

Plataformas de vacinas de subunidade de proteínas utilizam partes específicas do vírus SARS-CoV-2, como a proteína Espícula, que é a proteína utilizada pelo vírus para se ligar às células humanas. Em vez de usar o vírus inteiro, apenas a porção selecionada é produzida e utilizada na vacina (Silva *et al.*, 2021b).

As plataformas menos usuais têm como representantes a Plataforma de vacinas de DNA, Vírus atenuado vivo, vacina de subunidade proteína e partículas semelhantes a vírus (VLPs) (Silva *et al.*, 2021b) (Quadro 11).

Quadro 11 – Plataformas menos usuais das vacinas candidatas contra a COVID-19

Plataforma de vacinas	Antígenos	Resposta de anticorpos neutralizantes / Resposta de células T	Via de aplicação da vacina	Imunogenicidade geral
Vacina de DNA	Proteína <i>Spike</i>	Não induz / Indução de LT CD4 ⁺ e de LT CD8 ⁺ fraca	IM	Mais fraca do que a vacina de RNA; são necessárias doses de reforço.
Vírus atenuado vivo	Antígenos virais múltiplos	Indução forte / Indução de LT CD4 ⁺ e de LT CD8 ⁺ forte	SC	Excelente imunogenicidade, sendo necessária apenas uma dose da vacina para conferir a proteção.
Vacina de subunidade de proteína	Proteína <i>Spike</i> ou RBD	Indução forte / Indução de LT CD4 ⁺ e de LT CD8 ⁺ fraca	IM	Fraca; são necessárias doses de reforço.
Partícula semelhante a vírus (VLPs)	Antígenos virais múltiplos	Indução forte / Indução de LT CD4 ⁺ e LT CD8 ⁺ fraca	IM	Fraca, mas ainda é superior às vacinas de subunidades de proteínas; são necessárias doses de reforço.

Fonte: adaptado de Silva *et al.* (2021).

Efeitos adversos ou evento adverso pós-vacinação (EAPV) é qualquer ocorrência médica indesejada após vacinação e que, não necessariamente, possui uma relação causal com o uso de uma vacina ou outro imunobiológico (imunoglobulinas e soros heterólogos). De uma maneira geral, qualquer agravo à saúde que ocorra até 30 dias após a vacinação (Brasil,2021).

Os eventos adversos pós vacinação pode ser classificados em Eventos Adversos Graves (EAG), Eventos Adversos Não Graves (EANG) e erros de imunização (EI). Os Eventos Adversos Graves (EAG) é qualquer evento que requeira hospitalização que comprometa o paciente, ou seja, que ocasione risco de morte e que exija intervenção clínica imediata para evitar o óbito, cause disfunção significativa e/ou incapacidade permanente, resulte em anomalia congênita ou ocasione o óbito. Eventos Adversos Não Graves (EANG) são todos aqueles que não se enquadram nos critérios de EAG. Já os erros de imunização (EI) são eventos adversos causados por manuseio, prescrições e/ou administração inadequados e são preveníveis por meio de treinamento de pessoal, de suprimento adequado de equipamentos e insumos para a vacinação e da supervisão dos serviços (Silva *et al.*, 2021).

No Brasil as plataformas de vacina utilizadas no momento, segundo informações da ANVISA, aprovadas para uso são *Comirnaty* (Pfizer/Wyeth), *Comirnaty* bivalente BA.4/BA.5 (Pfizer), *Spikevax* (Adium), *Spikevax* bivalente (Adium)

da Moderna com tecnologia de RNA mensageiro sintético, *Janssen Vaccine* (*Janssen-Cilag*) com tecnologia de vetores de adenovírus sorotipo 26 (Ad26), Vacina COVID-19 (recombinante) Fiocruz com Tecnologia de vetor adenovírus recombinante, Vacina COVID-19 (recombinante) (*Zalika*) com tecnologia proteína S (*Spike*) recombinante + adjuvante. A vacina *Coronavac* (Butantan) com a tecnologia antígeno do vírus inativado teve autorização de uso emergencial expirada em 21 de maio de 2023; assim como a vacina bivalente B.A 1 (*Pfizer*) com tecnologia RNA mensageiro sintético. A vacina *Sputnik* com Tecnologia Adenovírus D-26 D-5 teve autorizada parte da importação sob condições controladas e autorizada por força da Lei 14.124/2021 e que por isso os aspectos de qualidade, segurança e eficácia da vacina foram atestados por meio do registro concedido pela autoridade sanitária da Rússia. A vacina *Covaxin* com Tecnologia de vírus inativado teve o processo de importação suspenso por medida cautelar da Diretoria Colegiada da Anvisa e não chegou a ser importada em 27/07/2021 por perda de legitimidade da empresa Precisa para atuar perante a ANVISA representando a empresa indiana *Bharat Biotech Limited International* e por suspeita de que documentos ilegítimos poderiam ter sido juntados ao processo de importação. Da mesma forma, também teve uso suspenso no país a vacina *Vaxzevria*, registrada em 12/03/2021, com validade para uso no país até o vencimento do seu registro em março/2024, porém a empresa AstraZeneca não procedeu à renovação do registro (Anvisa, 2024) (Figura 12).

Figura 12 – Vacinas e respectivas plataformas aprovadas no Brasil



Fonte: ANVISA (2024).

As vacinas bivalentes conferem maior proteção contra a COVID-19, pois contêm uma mistura de cepas do vírus Sars-CoV-2. Ressaltando então que as Comirnaty bivalente BA.4/BA.5 (Pfizer) são indicadas como reforço. Devendo serem aplicadas a partir de três meses após a série primária de vacina ou reforço anterior e oferecem proteção contra a variante original do vírus causador da COVID-19 e contra as cepas que surgiram posteriormente, incluindo a Ômicron (cepa Wuhan-Hu-1 original + cepa Ômicron BA.4/BA.5), variante de preocupação no momento (Anvisa, 2024).

A *Spikevax* bivalente (Adium) da Moderna é usada como dose única de reforço, ou seja, só pode ser aplicada em quem já se vacinou contra a doença (com uma ou duas doses, dependendo da vacina) e contém uma mistura de cepas do vírus Sars-CoV-2 (variante original (cepa Wuhan) e variante Ômicron); ou seja, ela é constituída pela variante original (cepa Wuhan) e uma variante de circulação mais recente (cepa Ômicron), enquanto *Spikevax* monovalente (Adium), também da Moderna, antes atualizada para a cepa ômicron XBB.1.5 é indicada a partir de 6 meses de idade e com plataforma de RNA mensageiro sintético (Anvisa, 2024)

A vacina *Comirnaty* (Pfizer/Wyeth) é composta de RNA mensageiro (mRNA) de cadeia simples, envolvido em nanopartículas lipídicas, com estrutura 5-cap altamente purificado, produzido usando transcrição *in vitro* sem células a partir dos modelos de DNA correspondentes, codificando a proteína S (*Spike*) do coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2) da variante Ômicron XBB.1.5 e pode ser usada em indivíduos com idade igual ou superior a 6 meses de vida (ANVISA, 2024).

A vacina Janssen (Janssen-Cilag) dose única, pode ser usada em vacinação primária, como reforço homólogo ou heterólogo após a conclusão da vacinação primária com uma vacina de mRNA COVID-19 aprovada (Anvisa, 2024).

A vacina COVID-19 (Recombinante)/FIOCRUZ é indicada para a imunização ativa de indivíduos a partir de 18 anos de idade para a prevenção da doença do coronavírus 2019 (COVID-19). Pode ser usada em vacinação primária com a segunda injeção sendo administrada entre 4 e 12 semanas após a primeira injeção. pode ser usada como reforço, com a mesma vacina ou vacina diferente das primeiras doses, podendo ser dada a partir de 3 meses após você ter completado o esquema primário de vacinação com a vacina COVID-19 (recombinante) ou com a vacina adsorvida COVID-19 (inativada) do Instituto Butantan, ou com a vacina de RNAm da Pfizer em casos de indisponibilidade desta ou de contraindicação (Anvisa, 2024).

Por fim, a Vacina COVID-19 (recombinante) (*Zalika*) é atualizada para a cepa ômicron XBB.1.5 e indicada para indivíduos acima de 12 anos de idade, podendo ser usada em esquema de vacinação primária composto por 2 doses, aplicadas com intervalo de 21 dias ou como dose de reforço da vacina pelo menos 2 meses após a imunização com qualquer vacina contra a COVID-19. Essa vacina é fabricada pelo Instituto Serum, da Índia, e foi aprovada pela Anvisa em 8 de janeiro de 2024, com a condição de que fosse submetida à atualização da cepa em até 60 dias a partir da publicação do registro. A atualização consiste na alteração da cepa usada como fonte para a produção do antígeno da proteína S (*Spike*) do vírus SARS-CoV-2, causador da doença. Conforme recomendação da OMS, as vacinas contra COVID-10 devem estar atualizadas para a cepa XBB.1.5, variante que confere proteção às formas circulantes do vírus neste momento. Por isso, a vacina COVID-19 (recombinante), monovalente com variante original, foi aprovada e em seguida atualizada para variante XBB 1.5 do vírus Sars-CoV-2. Ao passo que as vacinas *Spikevax*, da empresa *Adium S.A.*, e *Comirnaty*, da empresa *Pfizer do Brasil Ltda.* foram atualizadas para Cepa JN.1 em 22/11/2024, através da Resolução-RE Nº 4.334, de 21 de novembro de 2024 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa, 2024).

Até 23/10/2024 foram aplicadas no Brasil 522.149.828 doses de vacinas monovalentes e 36.845.880 doses de vacinas bivalentes, segundo dados do ministério da saúde (Quadro 12)

Quadro 12– Doses de vacinas monovalente e bivalentes aplicadas no Brasil

Total de Doses Aplicadas	1ª Dose	2ª Dose	3ª Dose
	185.404.530	167.803.294	3.740.023
	Dose Única	Dose Reforço	Dose Adicional
522.149.828	7.552.188	104.821.082	4.882.278
	1ª Dose Reforço	2ª Dose Reforço	3ª Dose Reforço
	2.529.157	44.287.865	1.043.957
Total de doses Aplicadas Bivalentes	Reforço		Outras doses
	36.493.582		352.298

Fonte: Brasil (2024).

A vacinação é uma importante ferramenta profilática para mitigar os impactos dessa doença. Apesar da aplicação de vacinas desencadear a produção de uma resposta imune específica com papel protetivo, foi notado que a aplicação de uma única dose vacinal não sustenta essa imunidade ativa por longos períodos, havendo diminuição dos níveis plasmáticos de anticorpos após poucos meses. Assim, são necessárias doses de reforço para manter uma resposta imune eficiente por períodos maiores. Com o desenvolvimento de diferentes vacinas, diversos protocolos heterólogos foram aplicados a fim de gerar respostas imunológicas mais eficazes. Nesse cenário, foi amplamente questionada a eficácia das vacinas e dos protocolos vacinais diante da proteção gerada pela infecção natural (Faustini *et al.*, 2024).

A eficácia da vacina é genericamente definida como a redução proporcional causada pela vacinação na probabilidade de que uma única exposição dê origem a uma infecção, e sua estimativa ocorre quando comparamos a taxa de ocorrência de infecção em vacinados com a taxa de infecções (não revolucionárias) em pessoas não vacinadas verificando que, exceto seu status de vacinação, são semelhantes às vacinadas; sendo que quando uma população atinge um nível suficientemente alto de cobertura vacinal a maioria das infecções ocorrerá em pessoas vacinadas, simplesmente porque a maioria das pessoas está vacinada. A medida da eficácia da vacina é um desafio por várias razões, pois infecções prévias à vacinação e o espectro da gravidade da doença de assintomática a fatal implica eficácia diferente da vacina contra cada desfecho (Lipsitch *et al.*, 2022).

A introdução da vacinação reduziu a taxa global de ataque da COVID-19 em 91% após a vacinação e a incidência agrupada de sintomas de COVID-19 após a vacinação foi de 9%, com uma taxa de 95% (7%-11%), e a idade dos participantes e presença de comorbidade (doença crônica) são determinantes significativos da infecção por SARS-CoV-2 pós-vacinação com COVID-19 sendo considerados preditores de infecção por SARS-CoV-2 após vacinações contra COVID-19 (Dinagde *et al.*, 2024).

A carga viral pode variar significativamente entre indivíduos (como resultado da suscetibilidade individual e da imunidade de infecções anteriores ou vacinação), o que leva a diferenças em sua propensão a transmitir o vírus. A vacinação leva à redução da carga viral, embora isso diminua com o tempo. No geral, embora as vacinas atualmente usadas ainda sejam baseadas na proteína *Spike* do vírus ancestral e provoquem principalmente uma resposta imune sistêmica em vez de mucosa, algum

efeito na carga viral, na eliminação e transmissão do vírus infeccioso foi observado. Além disso, com o aumento das taxas de infecções emergentes nas ondas Ômicron desde o final de 2021, muitos indivíduos apresentam imunidade híbrida consistindo em vacinação combinada com uma ou mais infecções naturais antes ou depois da vacinação. Acredita-se que tal imunidade híbrida pode fornecer melhor controle da replicação do vírus na mucosa (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Alguns estudos descobriram que a idade e o sexo influenciam as cargas virais e a dinâmica de eliminação. Em casos de infecção com SARS-CoV-2 ancestral, a resolução da eliminação de RNA foi mais rápida em participantes < 18 anos de idade e mais lenta em participantes > 50 anos de idade. Tendo sido observado cargas virais de RNA ligeiramente mais baixas e uma depuração mais rápida do RNA viral em crianças do que em adultos ao analisar coortes muito maiores, enquanto os padrões de curvas de eliminação ao longo do tempo foram semelhantes entre crianças e adultos (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Os efeitos da idade na resposta imune podem estar associados a uma redução da memória imunológica com a idade, células T envelhecidas criam células T efetoras inflamatórias de vida curta em vez de células T auxiliares foliculares ou de memória. (El-Hameed *et al.*, 2023). Existem algumas evidências de que diferenças associadas à idade e ao sexo na imunidade inata e adaptativa, bem como maior expressão de ACE2 em adultos do que em crianças, resultam em um risco aumentado de doença grave em pacientes do sexo masculino mais velhos (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023)

Todas as vacinas SARS-CoV-2 atualmente licenciadas são administradas por via intramuscular, levando a um aumento nos anticorpos séricos e proteção contra doenças graves e morte devido à COVID-19, mas não à proteção de longo prazo contra a infecção. Os níveis de anticorpos circulantes gerados após a vacinação diminuem ao longo do tempo, mas podem ser elevados por uma dose de reforço. Os indivíduos previamente vacinados que receberam uma dose de reforço apresentaram resposta semelhante aos indivíduos vacinados que foram naturalmente infectados pelo coronavírus no mesmo período (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Existe diferença na resposta quando analisadas amostras de vacinados com primeira e segunda doses. Sendo que amostras de vacinados com Pfizer apresentam títulos maiores, em seguida os vacinados com AstraZeneca e por último CoronaVac. Porém essas diferenças não foram observadas com os que receberam a terceira

dose, concluindo-se que a aplicação da terceira dose com vacina Pfizer nivelou as diferenças observadas nas doses anteriores (Oliveira, 2022).

Embora a quantidade de proteção oferecida por uma vacina contra a infecção possa diminuir ao longo do tempo, permitindo mais infecções revolucionárias à medida que a resposta imune diminui ao longo de meses (como observado para as vacinas contra o vírus influenza) e/ou à medida que a memória imunológica diminui ao longo dos anos (como observado para as vacinas contra caxumba). Da mesma forma, a proteção pode aumentar após uma infecção de avanço ou após uma dose subsequente da vacina, o que aumenta a resposta imunológica da pessoa (Lipsitch *et al.*, 2022).

Várias características individuais demonstraram estar associadas à maior incidência de doença grave em indivíduos infectados com infecção por SARS-CoV-2, incluindo idade mais avançada; imunossupressão; comorbidades específicas, como doenças cardiovasculares, pulmonares, renais, hepáticas e neurológicas crônicas; gravidez avançada; e tabagismo pesado. Indivíduos com tais fatores de risco, portanto, geralmente compreendem a maioria dos casos graves de COVID-19. Espera-se que a eficácia da vacina contra a doença grave seja geralmente maior do que contra a infecção ou doença leve, pois combina a menor probabilidade de infecção e a menor probabilidade de aqueles que estão infectados terem complicações graves (Lipsitch *et al.*, 2022).

A suscetibilidade de subgrupos populacionais vacinados específicos a infecções revolucionárias tem implicações para a política de priorização durante campanhas de vacinação de reforço. Esses subgrupos populacionais de risco também poderiam conduzir políticas diferenciais sobre intervenções não farmacêuticas, como regras de autoquarentena quando um indivíduo vacinado é exposto à infecção (Lipsitch *et al.*, 2022).

A extensão do declínio da imunidade humoral pode variar dependendo de vários fatores, como a idade, tipo de vacina e condições médicas subjacentes (Bashea *et al.*, 2024). Assim a questão crítica em saúde pública é saber até que ponto a proteção das vacinas diminui com o passar do tempo ou à medida que novas variantes virais circulam, aumentando assim a taxa de infecções revolucionárias dado um determinado nível de exposição (Lipsitch *et al.*, 2022). Portanto é de fundamental importância avaliar a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico epidemiológico, com isso é

possível obter escores prognósticos precisos que levam em conta a vacinação para identificar, no início de seu curso, aqueles com maior risco de desfechos graves, sendo especialmente importante para tomada de medidas terapêuticas que sejam mais eficazes quando administradas no início da infecção antes do aparecimento da doença graves.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico epidemiológicos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

O presente estudo se propõe a:

- a) avaliar por ELISA a presença de anticorpos IgG contra as proteínas S e N do SARS-CoV-2 por ELISA;
- b) avaliar qualitativamente por teste rápido fluorescente a presença de anticorpos neutralizantes;
- c) correlacionar a expressão do título de anticorpos entre as diferentes vacinas e regimes vacinais e variáveis clínico-epidemiológicas.

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAGEM

Este estudo foi conduzido na cidade de Alfenas, Minas Gerais. Uma amostra de 77 participantes foi constituída por docentes, servidores técnicos, colaboradores terceirizados e discentes da Universidade Federal de Alfenas. Os indivíduos responderam perguntas relacionadas ao tipo de vacina: vírus inativado (Coronavac), vetor viral (AstraZeneca), mRNA (Pfizer) ou vetor viral (Janssen); número de doses, dose de reforço e quanto a idade e o gênero, todos os participantes eram maiores de 18 anos e de ambos os sexos. Como critério de exclusão foi utilizado esquema de vacinação primário incompleto e recusa em colaborar para o andamento da pesquisa.

A primeira etapa consistiu na elaboração do termo de compromisso de utilização de dados e prontuários (TCUD), o termo de anuência institucional (TAI), termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), um questionário estruturado e submissão do projeto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG).

Após aprovação do projeto pelo CEP, foi feita a comunicação com os participantes por e-mail institucional e nos casos dos colaboradores terceirizados via chefia imediata. Foram explicados os objetivos, os procedimentos, os riscos e o sigilo e confidencialidade da pesquisa.

Na terceira etapa, os participantes foram agendados para coleta de sangue, quando novamente os objetivos, procedimentos, riscos e o sigilo e confidencialidade da pesquisa foram novamente explicados e o TCLE foi assinado.

A aplicação do questionário sobre o tipo de vacina foi feita de modo remoto, via e-mail. O questionário continha perguntas a respeito do histórico de vacinação (tipo de vacina, número de doses, data da vacinação), efeitos adversos, dados clínicos-epidemiológicos (idade, gênero, se teve COVID-19, se fez teste para COVID-19 e qual tipo de teste foi realizado). Esse questionário foi aplicado somente após o participante ter dado o seu consentimento. Foram então coletados o volume de 5 mL de sangue venoso de cada participante.

4.2 ASPECTOS ÉTICOS

A presente proposta foi submetida ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas e aprovada com o CAAE número: 58841422.5.0000.5142 (ANEXO).

4.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO (ELISA)

Um teste imunoenzimático, do tipo ELISA indireto, desenvolvido na Universidade Federal de Minas Gerais em seu Centro de Tecnologia em Vacinas (CT-Vacinas) (<http://www.ctvacinas.ufmg.br/>), foi utilizado para testagem das amostras de soro, com intuito de detectar anticorpos IgG anti-SARS-Cov-2. O teste em questão detecta anticorpos contra a proteína N e S do SARS-Cov-2, produzidas pelo CT-vacinas e já foi validado pela UFMG, USP e UFRJ.

O Centro de Tecnologia de Vacinas, onde o teste foi produzido, é um centro de pesquisas em biotecnologia, resultado de uma importante parceria estabelecida entre a Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), o Instituto René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ Minas) e o Parque Tecnológico de Belo Horizonte (BH-TEC) (CT-vacinas.2025).

Na análise de desempenho das proteínas N, S1e S é possível obter uma taxa de sensibilidade de N sozinha (98%) muito próxima de um ELISA com esta proteína associada a uma das outras duas versões da *Spike* (100%), o que não acontece com as proteínas *Spike* testadas de forma isolada (81% de sensibilidade para S1F e 85% para S) (Bagno, 2021).

Para a realização do ELISA, foram utilizadas placas de microtitulação de 96 poços Nunc MaxiSorp® (eBIOSCIENCE, EUA). Os poços foram revestidos com a proteína N e S de SARS-Cov-2 (4 µg/mL) diluída em tampão carbonato-bicarbonato (0,1 M pH 9,6). Foram adicionados 100 µL da solução por poço, e a placa incubada por 16 horas a 4°C. No dia seguinte, a placa foi lavada três vezes com solução salina tamponada (PBS) contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T), 300 µL por poço, e depois bloqueada com 200 µL de PBS-T acrescido de 1% de albumina sérica bovina durante 1 hora a 37 °C. Em seguida, a placa foi lavada seis vezes com PBS-T, 300 µL por poço, e posteriormente foram adicionados os soros testes na concentração de 1:100. A placa foi incubada por uma hora a 37 °C.

Após esse período, a placa foi lavada novamente quatro vezes com PBS-T, 300 µL por poço, e foram acrescentados 100 µL de anticorpos anti-IgG humano conjugado à peroxidase (Sigma-Aldrich, EUA) diluído conforme recomendação do fabricante. A placa foi incubada por uma hora a 37 °C. Em seguida, a placa foi lavada quatro vezes com PBS-T, 300 µL por poço, e depois foram adicionados 100 µL por poço de uma solução de Dicloridato de O-Fenilenodiamina (OPD) (Sigma-Aldrich, EUA) em tampão citrato-fosfato (0,1 M de ácido cítrico, 0,1 M de fosfato de sódio, pH 4,5) com 0,08% de H₂O₂.

Após a adição da solução, a placa foi incubada durante 15 minutos à temperatura ambiente, protegida da luz, e após este tempo, as densidades ópticas foram lidas a 450 nm em um leitor de microplacas Anthos Zenyth 200rt (Biochrom, Reino Unido).

O valor de corte foi definido como a média das leituras de absorvância do controle negativo (soros coletados de indivíduos cujo diagnóstico laboratorial para SARS-Cov-2 é negativo por testes sorológico e molecular) mais duas vezes o desvio padrão. Como controles positivos dos testes de ELISA foram utilizados soros de pacientes com diagnóstico positivo para SARS-Cov-2 por meio de ensaios molecular e sorológico. Assim, a concentração ideal do antígeno recombinante e da diluição de soros a ser empregada em cada teste foram determinados com base em uma distinção clara entre amostras positivas e negativas. O cálculo do *cut-off* em ensaios com amostras individuais, foi avaliado de acordo com a equação 1:

$$cut - off = Mneg + 2xDPneg \quad (\text{Equação 1})$$

A partir do *cut-off* determinou-se um índice de classificação dos resultados (I), baseando-se na absorvância de cada amostra *Abs*_{450 nm}, dividida pelo valor do *cut off* de acordo com a Equação 2:

$$I = Abs_{450nm} \text{ cut-off} \quad (\text{Equação 2})$$

Os resultados foram classificados como:

I < 0.8: amostra não reagente (negativa)

0.8 ≤ I < 1.1: amostra indeterminada

I ≥ 1.1: amostra reagente (positiva)

Em nosso caso utilizamos com finalidade qualitativa observando se as amostras seriam reagentes (positiva) ou não reagentes (negativa) para os anticorpos específicos IgG anti-SARS-Cov 2.

4.4 AVALIAÇÃO QUALITATIVA DE ANTICORPOS NEUTRALIZANTES POR TESTE RÁPIDO

O teste rápido fluorescente para medição qualitativa de anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro foi realizado utilizando kit ECO F COVID nAb - FA.0057 da empresa Eco Diagnóstica.

O ECO F COVID nAb é um imunoenensaio fluorescente para medição qualitativa de anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro. O ECO F COVID nAb deve ser usado com os analisadores F100, F200 e F2400. Este teste é destinado para auxílio na detecção de anticorpos neutralizantes contra o vírus SARS-CoV-2 (Bula ECO F COVID nAb-FA.0057).

Como a glicoproteína S dos coronavírus medeia a entrada nas células do hospedeiro, ela é o principal alvo dos anticorpos neutralizantes e o foco dos esforços para desenvolver agentes terapêuticos e vacinas. Os anticorpos neutralizantes desempenham um papel importante na eliminação do vírus e têm sido considerados um produto imunológico chave para proteção ou tratamento contra doenças virais. O ECO F COVID nAb possui duas linhas pré-revestidas, linha controle "C", linha teste "T" na superfície da membrana de nitrocelulose do dispositivo teste. O anticorpo anti-RBD é revestido na região da linha de controle e PEG-estreptavidina é revestido na região das linhas de teste. A proteína RBD conjugada com partículas de európio é usada como detectores para a linha de teste. Durante o teste, a proteína RBD conjugada com partículas de európio interage com os anticorpos neutralizantes SARS-CoV-2 na amostra que faz o complexo anticorpo-RBD ou proteína ACE-2 conjugada com o complexo ACE2-RBD que faz a biotina. O complexo ACE2-Biotina e RBD-Európio migram na membrana por ação capilar até atingir a linha de teste, onde é capturado pelo PEG-estreptavidina. A intensidade da luz fluorescente diminuirá na linha de teste se os anticorpos neutralizantes SARS-CoV-2 estiverem presentes na amostra. A intensidade da luz fluorescente vai variar dependendo da quantidade de anticorpos neutralizantes SARS-CoV-2 presentes na amostra. Se anticorpos neutralizantes SARS-CoV-2 estiverem presentes na amostra, a luz fluorescente aparecerá na linha de teste em proporção inversa à quantidade de anticorpo neutralizante (Bula ECO F COVID nAb-FA.0057). Estes testes tem Sensibilidade: >99,9% e Especificidade: 97,8%.

Quando a inibição neutralizante for $\geq 20\%$: Positivo e anticorpo neutralizante contra SARS-CoV-2 detectado. Se a Inibição neutralizante for $< 20\%$: Negativo e anticorpo neutralizante contra SARS-CoV-2 não detectado (Bula ECO F COVID nAb-FA.0057)

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi estruturado um banco de dados com as informações disponíveis, utilizando o programa Excel. A análise estatística dos dados foi realizada utilizando-se o software SPSS v.20. Foi realizada análise da distribuição de frequência das principais variáveis, com o objetivo de caracterizar a população atendida no estudo. Para as variáveis contínuas, foram calculadas a média, mediana e quartis.

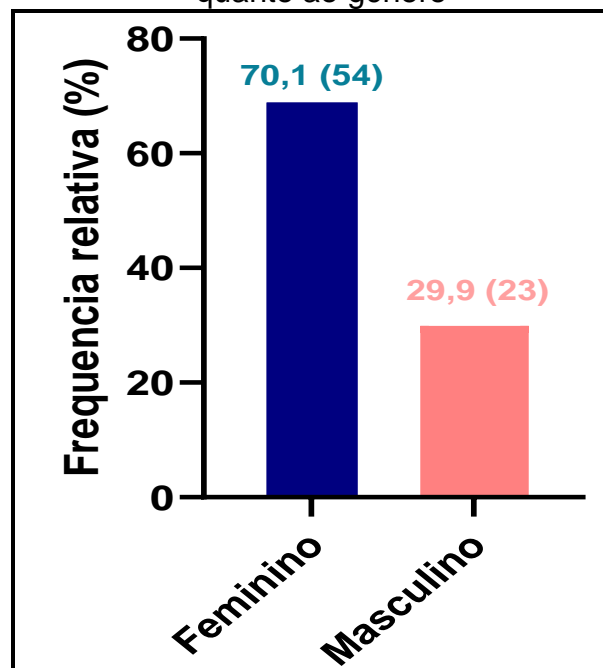
A existência de associação entre as variáveis categóricas foi verificada utilizando o teste de Qui-quadrado. Foi realizada análise de regressão logística para confirmação, visando informar o *odds-ratio*, para os fatores que foram considerados significativos, que expressa o efeito protetor ou potencializador daquele fator sobre a doença. Na análise multivariada, a expressão dos diferentes biomarcadores e o título de anticorpos foi realizada por meio do modelo de regressão múltipla.

As análises entre os subgrupos baixo e alto foram realizadas usando a análise de variância ANOVA, seguida pelo teste de Kruskal-Wallis e seguido pelo teste de comparação múltipla de Dunn. Foi utilizado intervalo de confiança de 95% e os dados considerados com significância estatística foram aqueles com valor de $p < 0,05$. O software GraphPad Prism versão 5.0 (San Diego, CA, EUA) foi usado para confecção de gráficos dos dados.

5 RESULTADOS

O grupo de 77 participantes do estudo era constituído por 54 (70,1%) indivíduos do gênero feminino e 23 (29,9 %) do gênero masculino (Figura 13). A média de idade foi de 41,62 anos +/- 11,701 desvio padrão, sendo a mínima 18 anos e a máxima 63 anos.

Figura 13– Distribuição frequência relativa dos participantes quanto ao gênero

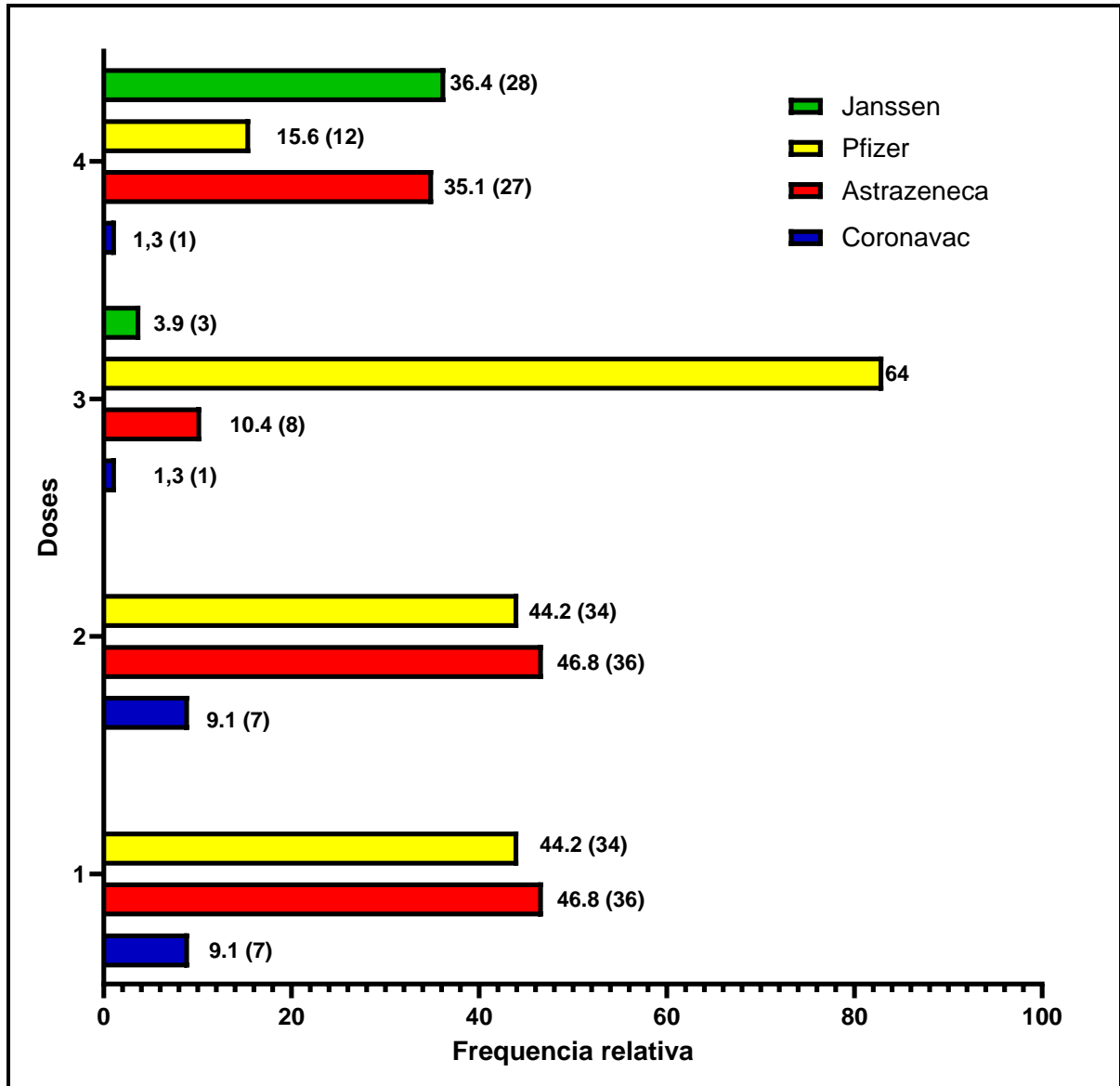


Fonte: Do autor (2025).

Quanto às vacinas utilizadas no esquema primário e em cada dose (1ª e 2ª), dos 77 participantes, 7 (9,1%) participantes receberam Coronavac, 36 (46,8%) receberam AstraZeneca e 34 (46,8%) receberam Pfizer, sendo a vacina AstraZeneca a mais utilizada nas duas primeiras doses. Enquanto no 1º reforço (3ª dose), 1 (1,3%) participante recebeu a vacina Coronavac, 3 (3,9%) participantes receberam a vacina Janssen, 8 (10,4%) participantes receberam a vacina AstraZeneca e 64 (83,1%) participantes receberam a vacina Pfizer. Outrossim, no 2º reforço (4ª dose) 1 (1,30%) participante foi imunizado com a vacina Coronavac, 12 (15,6%) participantes receberam o imunizante Pfizer, 27 (35,1%) participantes receberam AstraZeneca e 28 (36,4%) receberam Janssen. Observamos prevalência da AstraZeneca no esquema

primário, Pfizer na 3ª dose e Janssen (28 doses) na 4ª dose, conforme mostrado na Figura 14.

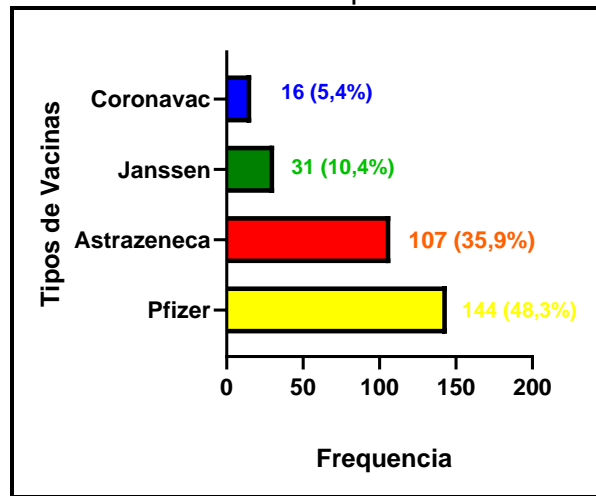
Figura 14 – Distribuição das vacinas aplicadas em cada dose



Fonte: Do autor (2025).

Ao analisar a totalidade de doses no esquema vacinal da 1ª a 4ª dose, constatou-se que 298 doses foram utilizadas, sendo 16 (5,4%) doses de Coronavac, 31 (10,4%) doses de Janssen, 107 (35,9%) doses de AstraZeneca e 144 (48,3%) doses de Pfizer (Figuras 16).

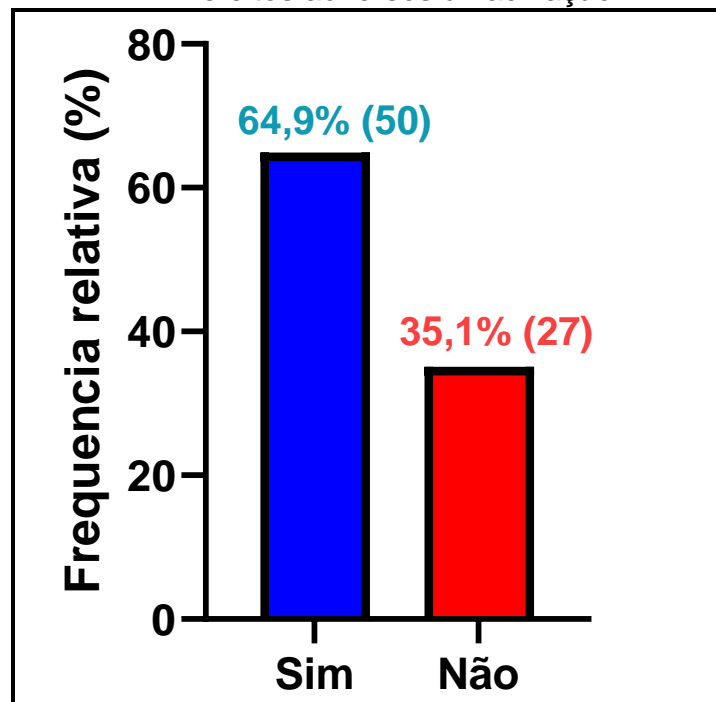
Figura 15 – Número total de doses de vacinas aplicadas



Fonte: Do autor (2025).

Ao analisarmos se os participantes sofreram efeitos adversos pós vacinação, 50 (64,9%) dos participantes relataram que sim e 27 (35,1%) relataram que não, conforme apresentado na Figura 16.

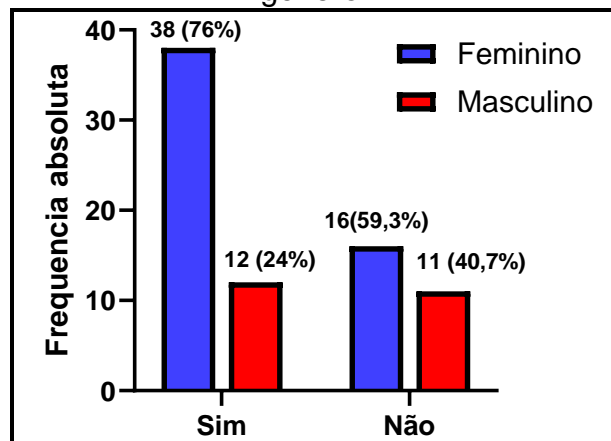
Figura 16 – Distribuição da frequência relativa de efeitos adversos à vacinação



Fonte: Do autor (2025).

Ao correlacionarmos a ocorrência de efeitos adversos em relação ao gênero dos participantes observamos que entre os 50 (64,9%) que sofreram efeitos adversos 38 (76%) eram do gênero feminino e 12 (24 %) do gênero masculino; e entre os 27 (35,10%) que relataram não terem sofrido efeitos adversos 16 (59,30%) eram femininos e 11 (40,70 %) masculinos (Figura 17).

Figura 17 – Distribuição de efeitos adversos em relação ao gênero

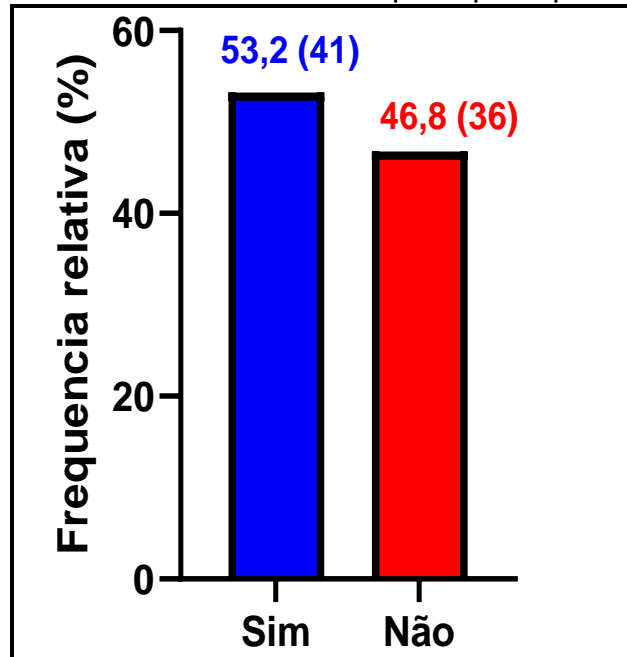


Fonte: Do autor (2025).

Ao serem questionados se tiveram COVID-19, 41 (53,2%) participantes responderam que tiveram, enquanto 36 (46,8%) relataram que não tiveram COVID-19 (Figura 18). Esta informação nos permitiria saber se o paciente teve contato com o vírus em algum momento e, portanto, se foi diagnosticado e se o resultado desse diagnóstico foi compatível com as suspeitas através dos resultados dos testes efetuados e com os resultados para o teste de ELISA para a proteína N.

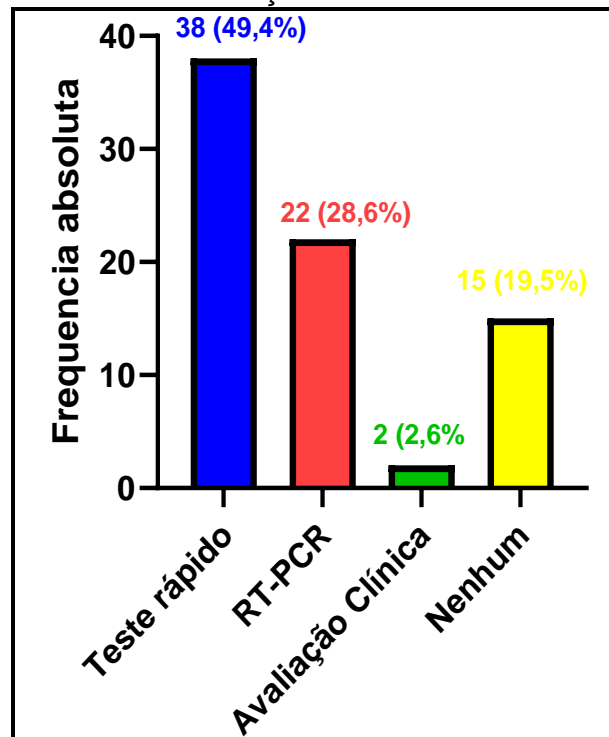
Ao serem indagados se em algum momento os participantes se submeteram a testes diagnósticos para COVID-19, 62 (80,5%) dos participantes relataram terem feito testes para COVID-19, enquanto apenas 15 (19,5%) não realizaram nenhum tipo de teste. Quanto ao tipo de teste realizado, 60 (77,9%) relataram terem feito testes específicos, sorológicos ou moleculares, para COVID 19; sendo que respectivamente 38 (49,4%) dos participantes realizaram o teste rápido e 22 (28,6%) realizaram teste molecular para detecção do vírus (RT-PCR) e apenas 2 (2,6%) realizou avaliação clínica. Sugerindo que a maioria dos participantes em algum momento suspeitou estar com COVID-19 (Figura 19).

Figura 18 – Distribuição da frequência relativa do número de casos de infecção por COVID-19 informada pelos participantes



Fonte: Do autor (2025).

Figura 19 – Distribuição da frequência das respostas em relação ao tipo de teste que foi realizado para detecção da COVID-19

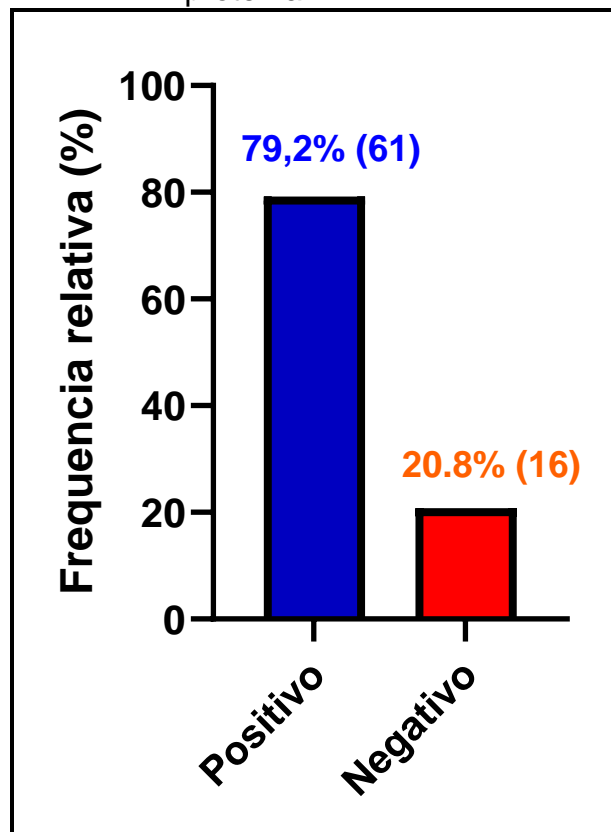


Fonte: Do autor (2025).

Os testes de ELISA indireto e teste rápido fluorescente foram realizados para avaliar a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico-epidemiológicos, de modo que por ELISA avaliouse a presença de anticorpos IgG contra as proteínas S e N do SARS-CoV-2, observando que uma resposta positiva para essas proteínas, indica a detecção de anticorpos específicos. Ao passo que um resultado negativo sugere a ausência de anticorpos mensuráveis. Ademais, por teste rápido fluorescente, avaliamos qualitativamente a presença de anticorpos neutralizantes e correlacionamos a % de anticorpos entre as diferentes vacinas e regimes vacinais e variáveis clínico-epidemiológicas.

O teste de ELISA indireto para detecção anticorpos para proteína N resultou em 61 (79,2 %) participantes positivos e 16 (20,8%) participantes negativos (Figura 20).

Figura 20 – Resultado do teste ELISA para proteína N



Fonte: Do autor (2025).

A presença de positividade para proteína N, no teste de ELISA, nos permitiria saber se o participante teve contato direto com o vírus, tendo se infectado naturalmente quando ele foi vacinado com outra plataforma de vacina diferente do vírus inativado, mRNA (Pfizer) ou vetor viral (AstraZeneca ou Janssen).

Ao correlacionar os resultados positivos do teste ELISA para proteína N com as respostas dos participantes à pergunta sobre a contato prévio com a doença, entre os 61 participantes que testaram positivo para proteína N, 32 (52,5%) afirmaram terem tido COVID-19 e 29 (47,5%) participantes relataram que não tiveram a doença; correspondendo a 78% de um total de 41(100%) que afirmaram terem sido infectados ou 41,6% do número total de participantes do estudo e a 80,6% de um total de 36 (100%) que afirmaram não terem sido infectados ou a 37,7% do número total de participantes do estudo respectivamente. Ao passo que entre os 16 participantes que testaram negativo para proteína N, 9 (56,2%) afirmaram que tiveram a doença e 7 (43,8%) disseram não terem sido infectados; correspondendo a 22% do total de 41 (100%) que afirmaram terem sido infectados ou a 11,7% do número total de participantes do estudo e a 19,4% do total de 36 (100%) que afirmaram não terem sido infectados ou 9,1% do número total de participantes do estudo (Tabela 2).

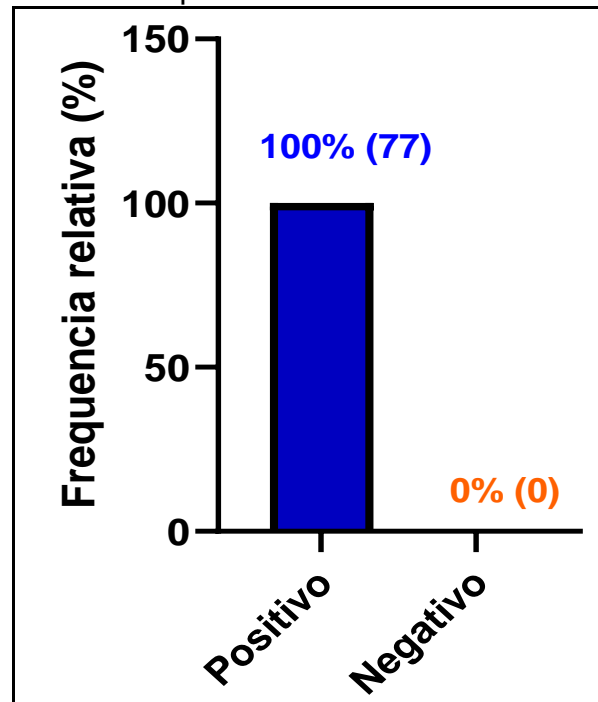
Tabela 2 – Correlação dos resultados do teste ELISA para proteína N com as respostas dos participantes quanto à infecção prévia com COVID-19

	Teste de ELISA proteína N/ Infecção prévia		Total
	Teve infecção	Não teve infecção	
Positivo	32 (52,5%)	29 (47,5%)	61 (100%)
Negativo	9 (56,3%)	7 (43,8%)	16 (100%)
Total	41 (53,2%)	36 (46,8%)	77 (100%)

Fonte: Autor (2025)

Também foi avaliado pelo teste de ELISA a presença de anticorpos anti proteína S para saber se a vacina estimulou com sucesso o sistema imunológico dos indivíduos vacinados na produção de anticorpos contra essa proteína e observou-se que todos os 53 (100%) participantes vacinados testaram positivo para proteína S. A presença desses anticorpos significa proteção contra infecções futuras (Figura 21).

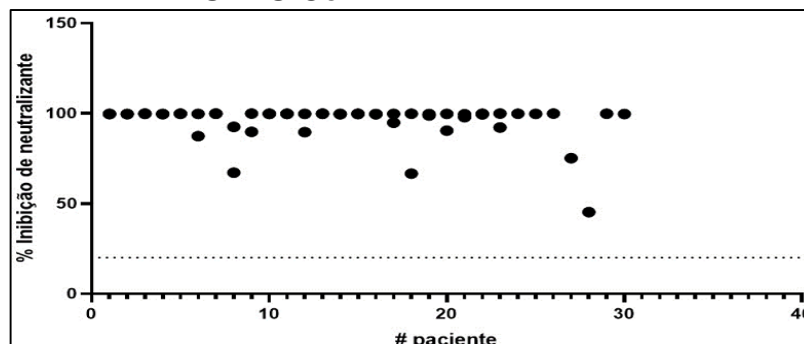
Figura 21 – Resultado do teste ELISA para proteína S



Fonte: Do autor (2025).

Para saber se as amostras possuíam anticorpos neutralizantes para os vírus, foram realizados teste rápido fluorescente para medição qualitativa de anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro e resultados para esses testes com valores $\geq 20\%$ indicam positivo e anticorpo neutralizante contra SARS-CoV-2 detectado. Todos 77 (100%) participantes da pesquisa demonstraram positividade; tendo grande parte apresentado resultados com valores acima de 90% (Figura 22).

Figura 22 – Resultado do teste rápido fluorescente utilizado para medir qualitativamente os anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2



Ao analisar o tempo de duração da resposta imune, considerando o período entre a data da coleta até o último reforço o tempo mínimo a ser considerado foi de um mês e o máximo de 25 meses com uma média de 9,36 meses e desvio padrão 5,728; ao passo que, considerando a imunidade obtida desde a primeira dose até a data da coleta a resposta imune obtida dura no mínimo 9 meses e no máximo 33 meses, sendo a média de 23,14 meses e o desvio padrão de 4,917 (Tabela 3).

Tabela 3 – Duração da resposta imune

Duração da resposta imune (meses)	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão
Último reforço/data da coleta	1	25	9,36	5,7
Primeira dose de vacina/data da coleta	9	33	23,14	4,9

Fonte: Autor (2025)

6 DISCUSSÃO

A imunidade esterilizante para um vírus como o SARS-CoV-2 é difícil de alcançar, mesmo com vacinas, e espera-se que a proteção diminua com o tempo desde a vacinação, pois infecções prévias à vacinação e o espectro da gravidade da doença de assintomática a fatal implica na eficácia diferente da vacina contra cada desfecho, sendo a medida desta eficácia um desafio. Assim, a questão crítica em saúde pública é saber até que ponto a proteção das vacinas diminui com o passar do tempo ou à medida que novas variantes virais circulam, aumentando assim a taxa de infecções revolucionárias dado um determinado nível de exposição (Lipsitch *et al.*, 2022).

Diante disso foi avaliado a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o vírus SARS-CoV-2 e sua associação com os fatores clínico epidemiológicos, como gênero, idade, vacinas/vacinação, infecções prévias, efeitos adversos e testes diagnósticos.

A maioria dos 77 participantes desse estudo era do gênero feminino conforme mostrado na Figura 13. A média de idade foi de 41,62 +/- 11,701 anos, sendo a mínima 18 e a máxima 63 anos. Os participantes fizeram uso de 4 plataformas vacinais: Coronavac, Pfizer, AstraZeneca, utilizadas no esquema primário e reforços, e Janssen, utilizada somente nos reforços (Figura 14). O imunizante da Pfizer foi o mais utilizado, de forma que 34 (46,8%) participantes utilizaram esse imunizante em cada dose do esquema vacinal primário homólogo (primeira e segunda doses), ao passo que 64 (84,30%) utilizaram na terceira dose (1º reforço), ocorrendo um pico de uso nesta dose e uma queda acentuada na quarta dose, com apenas 12 (15,6%). (Figura 14). Analisando a totalidade de doses no esquema vacinal até a 4ª dose, observamos que 298 doses (100%) foram aplicadas e destas, 144 (48,30%) doses eram do imunizante da Pfizer (Figura 15).

Um número acentuado de participantes relatou ter sofrido efeitos adversos. Essa ocorrência chamou atenção no presente trabalho, podendo ser relacionado ao tipo de vacina ou até mesmo ao gênero do participante, uma vez que estudos anteriores mostram essa relação; como o estudo de Oliveira *et al.* (2024) com 70% de mulheres, 48,9% das pessoas foram imunizadas contra COVID-19 com 3 doses, com predomínio (49,6%) do imunizante da Pfizer, 59% dos participantes relataram ocorrência de efeitos adversos pós vacinação, induzidos em sua maioria pelo

imunizante da farmacêutica Pfizer (31,1%). Sendo esse estudo condizente com resultados do presente trabalho, onde 70,10% (54) dos participantes eram mulheres (Figura 13) e destas 76% (38) sofreram efeitos adversos (Figura 17), a maior porcentagem de imunizante recebido foi da Pfizer, 48,3% (144) doses, quando considerado o número total de doses utilizadas no esquema vacinal de 1ª a 4ª dose (Figura 15) e cerca de 50 (64,9%) do total participantes sofreram efeitos adversos (Figura 16).

As infecções por SARS-CoV-2 tem apresentação inespecífica, havendo necessidade de ferramentas diagnósticas precisas para identificá-las. Essas consistem em métodos para detectar a presença de vírus infeccioso, por meio da detecção de proteínas virais específicas ou então do RNA viral, executando-se testes rápidos de antígenos ou PCR, respectivamente (Puhach; Meyer; Eckerle; 2023). Também pode se detectar a presença de anticorpos, realizando-se testes sorológicos, cerca de 1 a 2 semanas após o início dos sintomas do SARS-CoV-2, quando ocorre a soroconversão (Vogl et al., 2021). Estes testes são um dos métodos mais factíveis para verificar a presença de anticorpos específicos após uma infecção ou vacinação e podem avaliar facilmente o estado clínico (se a pessoa teve infecção anterior ou vacinação) possibilitando monitorar os níveis de imunidade (por exemplo, taxa de infecção, taxa de vacinação) na população (Iwamoto *et al.*, 2024).

Nesse contexto, realizamos o teste de ELISA indireto e o teste rápido fluorescente para avaliar a imunidade humoral induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico epidemiológicos, de modo que por teste de ELISA indireto avaliamos a presença de anticorpos IgG contra as proteínas S e N do SARS-CoV-2, observando que uma resposta positiva para essas proteínas, indica a detecção de anticorpos específicos, enquanto um resultado negativo, sugere a ausência de anticorpos mensuráveis. Ademais, por teste rápido fluorescente, avaliamos qualitativamente a presença de anticorpos neutralizantes e correlacionamos a expressão do título de anticorpos entre as diferentes vacinas e regimes vacinais e variáveis clínico-epidemiológicas.

O teste de ELISA indireto para detecção proteína N resultou 61 participantes (79,2%) positivos (Figura 20). A interpretação dos resultados relacionados à positividade da proteína N leva em conta o histórico de infecção (se teve COVID-19 ou não) e também o tipo de vacinação dos participantes, gerando uma resposta de anticorpos dominada pela imunoglobulina G (IgG) (Silva, 2021). A proteína N é

detectada em situações de infecção, uma vez que a maioria das vacinas não inclui este alvo (Silva, 2023), exceto vacina com plataforma de vírus inativado (Bashea *et al.*, 2024), e a referida proteína favorece a replicação viral, pois está envolvida na síntese e tradução do RNA, sendo um antagonista do interferon (Miranda, 2023). As demais vacinas contra a COVID-19 (por exemplo, Pfizer, AstraZeneca e Moderna), com plataformas diferentes de vírus inativado, estimulam apenas a produção de anticorpos anti-S, e isso significa que se pode distinguir os anticorpos provenientes de infecções naturais daqueles derivados da vacinação quando medimos os dois tipos de anticorpos anti-N e anticorpos anti-S (Guiomar *et al.*, 2022; Silva, 2023; Wadhwa *et al.*, 2021). Ao passo que vacinas que contém a forma inativada do vírus SARS-CoV-2, como a vacina Sinopharm ou então Sinovac (Coronavac), podem ser positivas tanto para a proteína S quanto para a proteína N, dificultando a diferenciação do grupo de indivíduos naturalmente infectados devido à positividade anti-N (Bashea *et al.*, 2024).

Posto isso, quando interpretamos os resultados relacionados à positividade da proteína N levando em conta o histórico de infecção (se teve COVID-19 ou não), obtivemos 61 (100%) participantes positivos, entre os quais, 29 (47,5%) negaram enfermidade (Figura 20, Tabela 2). Todavia, quando foram questionados se tiveram ou não COVID-19, entre todos os 77 participantes, 36 participantes (46,8%) negaram infecção por COVID-19 (Figura 18). Esses 29 participantes positivos para proteína N, que negaram infecção prévia, correspondem a 80,6% do total de respondentes negativos (36) ou a 37,7% do número total de participantes (77).

Quando consideramos a vacinação, tipo de vacina utilizada em cada dose, somente participantes imunizados com a vacina Coronavac poderiam ser positivos para a proteína N. Destarte, exceto para a mesma, a positividade para proteína N quando relacionada às demais vacinas, cujo alvo é somente a proteína S, em nosso estudo, nos indicaria ocorrência de infecção natural. A vacina Coronavac contribuiu com pequena parcela de positivos para proteína N, apenas 16 doses (5,4%) do total de 298 doses utilizadas no esquema vacinal da 1ª a 4ª dose (Figura 15). Assim, quando correlacionamos os dados anteriores, relacionados à infecção prévia, teste de Elisa proteína N e tipo de vacina utilizado, observamos que maior parcela de positividade da proteína N foi decorrente de infecção natural, pois os imunizados com Coronavac eram uma pequena parcela dos participantes e as demais vacinas não poderiam produzir a referida proteína e portanto aqueles que negaram infecção e

testaram positivo em sua maioria eram assintomáticos ou possivelmente sintomáticos leves, que não foram diagnosticados pelos testes convencionais.

Os testes diagnósticos efetuados correlacionados com a ocorrência de infecções prévias (se tiveram ou não COVID-19) e os resultados do teste de ELISA para proteína N, nos mostraram que a maioria, em certo momento, suspeitou estar com COVID-19 e que os casos suspeitos foram maiores que os confirmados, já que, ao serem indagados sobre a realização de testes diagnósticos, cerca de 60 (77,9%) dos participantes relataram terem feito exames complementares, sorológicos e moleculares, para COVID-19 (Figura 19). No entanto, quando indagados se tiveram a doença, 41 (53,20%) participantes responderam afirmativamente (Figura 18). Ao passo que 61 (79,2%) participantes testaram positivo para proteína N no teste ELISA (Figura 20), e destes apenas 32 (52,5%) participantes relataram terem sido diagnosticados com COVID-19 (Figura 20, Tabela 2). Esses dados nos levam a supor quando correlacionamos as informações anteriores, que os testes diagnósticos realizados pelos participantes, 38 (49,4%) testes rápidos e 22 (28,6%) testes moleculares (Figura 19) informaram resultados falso negativo e possivelmente não detectaram assintomáticos ou sintomáticos leves, pois 29 (47,5%) participantes negaram infecção prévia e, no entanto, testaram positivo para proteína N indicando ocorrência de infecção (Tabela 2). Provavelmente isso tenha ocorrido pois, tais testes foram realizados em momento inapropriado ou por conta própria pelos participantes do estudo. Os testes rápidos não são apropriados para o diagnóstico precoce da infecção pelo SARS-CoV-2 e a acurácia destes ensaios é dependente da época em que a coleta foi realizada, sendo que a IgM é identificada a partir do quinto dia de sintomatologia e, mais significativamente, a partir do oitavo dia, enquanto os valores de IgG específica começam a ser detectáveis a partir do décimo dia do início dos sintomas e, mais significativamente, a partir do 14º dia (Oliveira *et al.*, 2022). Também os testes moleculares RT-PCR poderão ser falsos negativos dependendo se a coleta for muito precoce ou então muito tardia, no início ou final da fase aguda (Puhach; Meyer; Eckerle; 2023) e a sua realização é indicada na fase aguda da doença entre o primeiro ao oitavo dia do surgimento dos sintomas para o diagnóstico da COVID-19 (Oliveira; Matos; Morais, 2020).

O teste de ELISA para proteína S, indicou que todos os 77 (100%) participantes testaram positivo para anticorpos específicos anti-S. Esses resultados indicam que a vacina estimulou com sucesso o sistema imunológico dos indivíduos vacinados na

produção de anticorpos contra o vírus que podem auxiliar na proteção contra infecções futuras, identificando e neutralizando o vírus (Figura 21).

Indivíduos recuperados de COVID-19 produzem anticorpos IgG direcionados às proteínas virais S e N e ao RBD, que são de particular relevância por sua alta probabilidade de capacidade neutralizante (Zheng *et al.*, 2022). Enquanto em indivíduos vacinados a proteína S dos coronavírus é comumente usada no design da vacina contra o coronavírus porque desempenha um papel crucial na mediação da entrada viral nas células hospedeiras. Assim, sugerimos que os participantes portam imunidade híbrida, induzida tanto por vacinação quanto por infecção (Zheng *et al.*, 2022), pois obtivemos para ambas proteínas S e N do SARS-CoV-2 resultado positivo no teste ELISA.

Nossos achados são compatíveis com os achados do estudo de Bashea *et al.* (2024), no qual usaram as vacinas Pfizer, AstraZeneca e Janssen, porém excluíram a vacina Sinopharm que contém uma forma inativada do vírus SARS-CoV-2, por ser positiva tanto para a proteína S quanto para a proteína N dificultando a diferenciação entre vacinados e naturalmente infectados devido à positividade anti-N; ao passo que em nosso estudo tivemos participantes que receberam Coronavac (plataforma de vacina de vírus inativado), e concluíram que os indivíduos vacinados que testaram positivo para anticorpos anti-N podem ter imunidade híbrida, pois todos os indivíduos vacinados neste estudo que testaram positivo para anticorpos anti-N relataram que não apresentaram nenhum sinal ou sintoma perceptível de infecção por SARS-CoV-2 no passado, sugerindo também que eram portadores assintomáticos do vírus, sendo consistente com o relatório da OMS no qual aproximadamente 80% das infecções por SARS-CoV-2 são assintomáticas ou leves. Nosso resultados foram próximos ao de Bashea *et al.* (2024), de modo que 77 (100%) participantes, vacinados, testaram positivo para proteína S e 61 (79,20%) testaram positivo para proteína N do SARS-CoV 2 (Figuras 22 e 21) respectivamente, ao passo que Bashea *et al.* (2024) obtiveram 100% de positividade para proteína S e 91,6 % de positividade para proteína N. No geral, embora as vacinas atualmente usadas ainda sejam baseadas na proteína *Spike* do vírus ancestral e provoquem principalmente uma resposta imune sistêmica em vez de mucosa, algum efeito na carga viral, na eliminação e transmissão do vírus infeccioso é observado. Acredita-se que a imunidade híbrida possa fornecer melhor controle da replicação do vírus na mucosa e com isso levando a ocorrência de infecções assintomáticas, leves ou moderadas e menos graves (Oliveira, 2022).

Entretanto, ao avaliar a eficácia das vacinas, imunidade gerada, não basta somente detectar anticorpos específicos para o antígeno, é preciso saber se são capazes de neutralizá-lo. Neste sentido estudos recentes sugerem que a presença de anticorpos neutralizantes acima de 20,2% confere 50% de proteção contra infecções sintomáticas causadas pelo SARS CoV-2 e apenas a atividade neutralizante mede de forma confiável a proteção real conferida pelos anticorpos gerados, apesar de ensaios de detecção serem ferramentas úteis para avaliar o quadro imunológico de um indivíduo (Oliveira *et al.*, 2024). Nesse contexto, foi realizado testes rápidos fluorescentes para medição qualitativa dos anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro e para esses testes, resultados $\geq 20\%$ indicam positividade. Todos os 77 indivíduos que participaram da pesquisa demonstraram positividade para presença anticorpo neutralizante contra SARS-CoV-2, tendo apresentado resultado acima de 90% (Figura 22). Desta forma deduziu-se que todos participantes do estudo apresentam-se protegidos contra o SARS-CoV-2 por uma imunidade adaptativa híbrida obtida tanto pela vacinação quanto pela infecção natural pelo fato de apresentarem 100% de positividade no teste ELISA para a proteína S, 79,2% para proteína N e positividade para anticorpos neutralizantes em sua grande parte acima de 90%.

Contudo, o consenso na literatura é de que a eficácia protetora das vacinas diminui ao longo do tempo e os níveis de anticorpos diminuem significativamente alguns meses após a vacinação (Dinagde *et al.*, 2024; Bashea *et al.*, 2024; Yan *et al.*, 2023), à medida que a resposta imune diminui ao longo de meses e/ou à medida que a memória imunológica diminui ao longo dos anos, permitindo mais infecções revolucionárias, no entanto, esta proteção também pode aumentar após uma infecção revolucionária ou após uma dose subsequente da vacina, o que aumenta a resposta imunológica da pessoa (Lipsitch *et al.*, 2022). A extensão do declínio da imunidade humoral pode variar dependendo de vários fatores, como tipo de vacina, idade e condições médicas subjacentes (Bashea *et al.*, 2024).

Considerando o fator vacina, se são contra vírus, as vacinas funcionam gerando respostas imunes que inibem o processo de infecção principalmente através de anticorpos séricos que se ligam e/ou neutralizam partículas virais e, criando também memória imune na forma de células B de memória antígeno-específicas e células T, que são preparadas para produzir uma resposta anamnésica rápida quando a infecção reintroduz o antígeno vacinal no corpo (Lipsitch *et al.*, 2022). A

concentração de anticorpos é aumentada com o número de doses da vacina, sendo então importante uma série de vacinações e vacinas de reforço e o monitoramento regular da soroprevalência de anticorpos induzidos pela vacina para obter proteção contínua (Bashea *et al.*, 2024).

No entanto, após a vacinação, apesar de ocorrer um decaimento da imunidade humoral com o decorrer do tempo, em um determinado momento, a mesma se estabiliza, conforme estudo longitudinal observacional realizado por Srivastava *et al.* (2024), chamado PARIS (Proteção Associada à Imunidade Rápida ao SARS-CoV-2), envolvendo uma coorte de 501 adultos, sem comorbidades imunomoduladoras, com ou sem imunidade pré-existente ao SARS-CoV-2 que receberam exclusivamente vacinas de mRNA, monovalentes ou bivalentes (reforço), Pfizer BioNTech BNT162b2 e Moderna mRNA-1273, durante 3 anos (abril de 2020 a março de 2023). Neste estudo determinaram a cinética das respostas de anticorpos à proteína *Spike* e suas descobertas indicaram que, em contraste com a percepção comum, a vacinação com mRNA da COVID-19 induz respostas de anticorpos duradouras em humanos com decaimento bifásico clássico, constituído inicialmente de uma fase de declínio, rápido, seguida de transição para uma fase de estabilização após 7 a 9 meses. Também Yan *et al.* (2023), em estudo com pacientes convalescentes de SARS-CoV-2, portanto com infecções prévias, descobriram que a imunização de reforço da vacina ainda é eficaz após 15-17 meses de infecção por SARS-CoV-2, com indivíduos apresentando altos níveis de anticorpos neutralizantes e com tendência a altos níveis de imunidade celular, destacando uma resposta imune humoral e celular robusta que pode ser reativada pela vacina inativada em pacientes convalescentes SARS-CoV-2.

Esses achados ocorreram porque a resposta imune é constituída de uma primeira fase que reflete anticorpos secretados por populações de plasmablastos de curta duração, que se expandem logo após a exposição ao antígeno como primeira linha de defesa. E uma segunda fase, geralmente muito lenta, de declínio, que reflete a cinética dos plasmócitos de vida longa, que migram para a medula óssea e de lá secretam anticorpos para o sangue, muitas vezes mantendo títulos estáveis por muitos anos (Lipsitch *et al.*, 2022; Srivastava *et al.*, 2024).

Portanto, é importante considerar a existência de infecções prévias e uso de vacinas e reforços na composição da imunidade humoral obtida ao longo do tempo. Quando a imunidade for híbrida melhor proteção é oferecida contra infecções revolucionárias na era pré-Omicron e pós-Omicron, e, em indivíduos vacinados,

anteriormente ingênuos, estas infecções têm um efeito semelhante ao de uma dose de reforço (Srivastava *et al.*, 2024).

O presente estudo é retrospectivo, assim, quando considerou-se a duração da resposta imune para o período que se estende do último reforço até a data da coleta; os resultados obtidos mostraram uma duração em média 9,36 +/- 5,728 meses, sendo o mínimo 1 mês e o máximo 25 meses e se considerado da primeira dose de vacina até a data da coleta, os resultados mostram uma média de 23,14 meses de duração da resposta imune, sendo o mínimo 9 meses e o máximo 33 meses (Tabela 3) nos permitindo sugerir que a imunidade permanece estável e eficaz nos períodos de tempo considerados, pois obtivemos um resultado de 100% para proteína S no teste ELISA, significando 100% de presença de anticorpos IgG anti *Spike* e resultados acima de 90% para presença de anticorpos neutralizantes (Figura 21 e 23).

Isso nos permite sugerir que ao considerarmos o fator tempo a imunidade se mostra duradoura com resultados condizentes com outros estudos descritos na literatura, inclusive estudos prospectivos como o estudo PARIS conduzido por Srivastava *et al.* (2024) e o estudo de Yan *et al.* (2023), sendo então importante considerarmos a existência de infecções prévias e uso de vacinas e reforços na composição da imunidade humoral obtida ao longo do tempo.

Assim, em estudo anterior, Buckner *et al.* (2022), ao investigar os efeitos da infecção por SARS-CoV-2 nas respostas de anticorpos e células B a uma terceira dose da vacina BNT162b2 (*Pfizer*) ou mRNA-1273 (moderna), destaca que o momento relativo à infecção é um fator-chave no reforço imunológico, quando a imunidade for híbrida, concluíram que, se uma infecção emergente ocorrer após uma dose de reforço, esta provoca uma resposta robusta e aumentada, no entanto, se a infecção ocorrer antes da vacinação de reforço, as respostas dos anticorpos e das células B são silenciadas mais perto do momento da infecção e atingem níveis melhores à medida que o intervalo de tempo entre a infecção e a vacinação aumenta, sendo maior (robusta) quando o intervalo de tempo entre a infecção e vacinação for maior que 180 dias.

Também, em estudo anterior, Oliveira (2022) avaliou a resposta imune humoral em indivíduos que receberam até três doses de vacina contra cepa ancestral e variantes Gama, Delta e Ômicron do SARS-Cov-2. Neste estudo, mostraram a importância de uma dose de reforço após o esquema primário, e notaram que existe diferença na resposta quando analisadas amostras de vacinados com primeira e

segunda doses; pois as amostras de vacinados com Pfizer apresentaram títulos maiores, seguido pela AstraZeneca e por último Coronavac, porém a aplicação da terceira dose com vacina Pfizer nivelou as diferenças observadas nas doses anteriores e isso vale para qualquer outra vacina usada com reforço.

O reforço vacinal tem efeitos semelhantes à infecção natural pelo SARS-CoV-2 na resposta imunológica de indivíduos previamente vacinados, comparando a resposta imunológica apresentada por indivíduos previamente vacinados com aqueles que foram naturalmente infectados (Faustini *et al.*, 2024). Assim, indivíduos previamente vacinados que receberam uma dose de reforço apresentam resposta semelhante à de indivíduos vacinados que foram naturalmente infectados pelo coronavírus no mesmo período (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023).

Estudo anterior de Bashea *et al.* (2024) em uma coorte de 355 indivíduos naturalmente infectados e 355 vacinados no período de novembro de 2022 a abril de 2023, mostrou que indivíduos vacinados apresentaram níveis mais altos de anticorpos SARS-CoV-2 do que aqueles que foram naturalmente infectados, devido à exposição repetida com infecção natural ou ainda pelo uso de diferentes tipos de vacinas (reforços heterólogos); e entre os participantes vacinados, 100% produziram anticorpos anti-S e 91,6% produziram anticorpos anti-N. Em nosso estudo, 100% dos participantes produziram anticorpos anti-S e 79,20 % produziram anticorpos anti proteína N (Figura 20 e 22), resultados próximos ao de Bashea *et al.* (2024) e isso permite-nos afirmar que certamente os reforços contribuíram para esses resultados, levando-nos a concluir que a população, ora estudada, está 100% protegida inclusive contra VOCs.

Haja vista, mesmo em indivíduos com imunidade híbrida, a atualização das vacinas contra COVID-19 é necessária, já que as vacinas disponíveis até a terceira dose são baseadas na cepa ancestral de Wuhan, tendo como alvo neutralizante a sua RBD. Diante disso, todas as mudanças evolutivas da variante Ômicron garantiram vantagens sobre as vacinas, por isso as vacinas vindouras devem ser desenvolvidas com base em variantes mais atuais (Oliveira, 2022).

Nesse contexto, a partir da 4^a dose as vacinas utilizadas no Brasil foram atualizadas para a variante atual da cepa original de Wuhan (monovalente) ou para a variante atual + cepa original (bivalente). Atualmente as vacinas, conforme recomendação da Organização Mundial da Saúde (OMS), deverão estar sendo

atualizadas para a cepa XBB.1.5 e JN.1 (Anvisa, 2024), formas circulantes do vírus neste momento.

Isso posto, ao confrontarmos dados de vacina, esquema vacinal (primário e reforços) e infecções prévias dos participantes com o descrito anteriormente na literatura específica podemos constatar que estes fatores influíram positivamente para a imunidade humoral por eles apresentada. Como os sintomas de infecções invasivas são frequentemente leves e moderados, os indivíduos não estavam cientes de que foram infectados pelo vírus e, portanto, não procuraram atendimento médico (Bashea *et al.*, 2024) podendo inclusive terem feito testes rápidos por conta própria.

Considerando o fator idade e condições médicas subjacentes, os efeitos da idade na resposta imune podem estar associados a uma redução da memória imunológica com seu aumento, sendo inversamente proporcionais; e na medida em que a idade avança, as células T envelhecidas criam células T efetoras inflamatórias de vida curta em vez de células T auxiliares foliculares ou de memória (El-Hameed *et al.*, 2023). Ocorrendo a imunosenescência, o sistema imunitário do indivíduo pode não responder de forma tão robusta à vacina, e por conseguinte ao surgimento de variantes emergentes do vírus SARS-CoV-2 com maior potencial de transmissão e evasão. Conjuntamente, indivíduos mais velhos são frequentemente portadores de problemas de saúde subjacentes, doenças crônicas ou comorbidades pré-existentes, que enfraquecem o seu sistema imunitário e este não responde eficazmente ao vírus, tornando-os mais vulneráveis a infecções e com risco aumentado de infecções invasivas mesmo após a vacinação. Assim, idade e presença de condições médicas subjacentes são consideradas preditores de infecção por SARS-CoV-2 após vacinações contra COVID-19, portanto, indivíduos mais velhos, portadores destas condições e tendo recebido a vacina mais cedo são potencialmente mais propensos à reinfeção por novas variantes (Dinagde *et al.*, 2024).

Alguns estudos descobriram que a idade e o sexo influenciam as cargas virais e a dinâmica de eliminação. Em casos de infecção com SARS-CoV-2 ancestral, as cargas virais de RNA são ligeiramente mais baixas e ocorre depuração mais rápida do RNA viral em crianças do que em adultos sendo a resolução da eliminação de RNA mais rápida em participantes < 18 anos de idade e mais lenta em participantes > 50 anos de idade. Há algumas evidências de que diferenças associadas à idade e ao sexo na imunidade inata e adaptativa, bem como maior expressão de ACE2 em

adultos do que em crianças, resultam em um risco aumentado de doença grave em pacientes do sexo masculino mais velhos (Puhach; Meyer; Eckerle, 2023)

Segundo Merad *et al.* (2022), pacientes do sexo masculino correm um risco muito maior de desenvolver COVID-19 grave, decorrente de uma imunidade inata aprimorada e ativação prejudicada de células T em comparação com mulheres e/ou níveis mais altos de anticorpos anti-SARS-CoV-2 afucosilados, que segundo Junqueira *et al.* (2022) são anticorpos produzidos quando o SARS-CoV-2 penetra no organismo e desencadeia uma infecção, diferente daqueles produzido pela vacina, pois, além de neutralizarem o vírus e impedir sua entrada nas células epiteliais do pulmão, desencadeiam fagocitose por parte dos monócitos, que ativam seus inflamassomas e morrem, por piroptose. Esse processo desencadeia uma cascata inflamatória agravando a doença, pois lança sinalizadores de perigo indicando que algo está errado e o organismo começa a produzir novas células de defesa.

Além disso, segundo Brito *et al.* (2020), os níveis circulantes de ACE-2 são mais elevados em homens do que em mulheres; nestas há maior a ativação da via TLR-3 pela molécula adaptadora TRIF que induz a produção de interferon tipo I (IFN Tipo I) que limita a replicação viral, aumenta a fagocitose pelos macrófagos e a atividade citotóxica pelas células NK induzindo a resistência de células não infectadas à infecção (Silva *et al.*, 2020). O Interferon tipo I é uma potente citocina antiviral, importante na resposta precoce à infecção por SARS-CoV-2, produzida pela ação do estrogênio que também aumenta a atividade de células T e anticorpos (Peckham *et al.*, 2020 apud Queiroz *et al.*, 2022).

Em conjunto, essas referências corroboram dados epidemiológicos que mostram que a gravidade e letalidade são maiores no sexo masculino em relação ao feminino. E neste contexto, a faixa etária e sexo dos participantes de nosso estudo nos permite concluir a respeito de ocorrência de infecção natural com participantes assintomáticos ou sintomáticos leves, em decorrência do predomínio do gênero feminino sobre o masculino com faixa etária constituída predominantemente de adultos e com poucos idosos (com limite de 63 anos) (Figura 13).

7 CONCLUSÃO

Pode-se concluir que todos os participantes apresentaram uma resposta imune humoral robusta e duradoura, pois apresentaram no teste ELISA indireto, resultado de 100% para anticorpos IgG anti *Spike* e anticorpos neutralizantes por teste rápido fluorescente, sugerindo o quão eficaz foi a vacinação. O regime de vacinação heterólogo e o uso de vacinação de reforço contribuíram significativamente para esses achados.

REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 9. ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2019.

ANVISA. **Vacinas COVID-19**. Brasília, DF: ANVISA, [2024]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas>. Acesso em: 23 nov. 2024.

BAGAGLI, M. P. **Refletindo sobre a taxa de letalidade da Covid-19**. Avaré, SP: Instituto Federal São Paulo, [2020]. Disponível em: <https://avr.ifsp.edu.br/files/Refletindo-sobre-a-taxa-de-letalidade-da-Covid19.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2025.

BAGNO, F. F. **Geração de proteínas recombinantes e aplicação em testes sorológicos para detecção de anticorpos antichikungunya, Zika e SARS-CoV-2**. 2021. 261 f. Tese (Doutorado em Microbiologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2021.

BASHEA, C. *et al.* Detection and comparison of SARS-CoV-2 antibody produced in naturally infected patients and vaccinated individuals in Addis Ababa, Ethiopia: multicenter cross-sectional study. **Virologia**, v. 21, n. 192, p. 1-11, 2024.

BOMBINI, F. J. *et al.* Produção de anticorpos e citocinas em resposta ao SARS-CoV-2: comparação entre imunidade vacinal e híbrida. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 83, n. 1, p. e40020(1-6), 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Esclarecimentos sobre eventos adversos supostamente atribuíveis à vacinação contra a Covid-19**. Brasília, DF: MS, [2021]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/estudos-e-notas-informativas/2021/nota-informativa-no-11-2021-cgpn-deidt-svs-ms.pdf/view>. Acesso em: 03 nov. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vacinômetro COVID-19**. Brasília, DF: MS, [2024]. Disponível em: https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19.html. Acesso em: 23 out. 2024.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Painel de casos de doença pelo coronavírus 2019 (COVID-19) no Brasil pelo Ministério da Saúde**. Brasília, DF: MS, [2025]. Disponível em: <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 16 fev. 2025.

BRITO, S. B. P. *et al.* Mecanismos imunopatológicos envolvidos na infecção por SARS-CoV-2. **J Bras Pat Med Lab**, v. 56, n. 1, p. 1-10, 2020.

BRITO, S. B. P. *et al.* Pandemia da COVID-19: o maior desafio do século XXI. **Vigil Sanit Debate**, v. 8, n. 2, p. 54-63, 2020.

- BUCKNER, C. M. *et al.* Interval between prior SARS-CoV-2 infection and booster vaccination impacts magnitude and quality of antibody and B cell responses. **Cell**, v. 185, n. 23, p. 4333-4346, 2022.
- CERVIA, C. *et al.* Systemic and mucosal antibody responses specific to SARS-CoV-2 during mild versus severe COVID-19. **J Allergy Clin Immunol**, v. 147, n. 2, p. 545-557, 2021.
- CHAGAS, S. R. *et al.* Vacinas e suas reações adversas: revisão. **Pubvet**. v. 13, n. 8, p. 1-14, 2019.
- CORDEIRO, T. P. **Diagnóstico Laboratorial da Infecção e Determinação do Estado Imune para o SARS-CoV-2**. 2021. 106 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade Ciências da Saúde, Universidade Fernando Pessoa, Porto, PT, 2021.
- CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nat Microbiol**, v. 5, n. 4, p. 536-544, 2020.
- DANTAS, T. V. M. **Desenvolvimento e padronização de ELISA indireto para diagnóstico de Maedi-Visna Vírus em ovinos**. 2004. 77 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) - Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, CE, 2004.
- DIAS, T. L. *et al.* SARS-CoV-2 Selectively induces the expression of unproductive splicing isoforms of interferon, class I MHC, and splicing machinery genes. **Int J Mol Sci**, v. 25, n. 11, p. 5671, 2024.
- DIAS, V. M. C. H. *et al.* Testes sorológicos para COVID-19: Interpretação e aplicações práticas. **J Infect Control**, v. 9, n. 2, p. 1-12, 2020.
- DINAGDE, D. D. *et al.* SARS-CoV-2 infection after COVID-19 vaccinations among vaccinated individuals, prevention rate of COVID-19 vaccination: a systematic review and meta-analysis. **Heliyon**, v. 10, n. 9, p. e30609, 2024.
- DUTRA, L. C. *et al.* Avaliação da epidemiologia e da motivação para realização do teste rápido de antígeno durante a pandemia da COVID-19. **Braz J Health Pharm**, v. 4, n. 3, p. 25-36, 2022.
- ECO F COVID nAb-FA.0057. Responsável Técnico: Vinícius Silva Pereira. Corinto, MG: ECO Diagnóstica LTDA, 2020. 1 bula de imunoensaio fluorescente para medição qualitativa de anticorpos neutralizantes circulantes contra SARS-CoV-2 em amostras humanas de soro (2 p.).
- EL-HAMEED, A. A. *et al.* Assessment of humoral immune response to different COVID-19 vaccines in patients undergoing maintenance hemodialysis. **J Bras Nefrol**, v. 45, n. 4, p. 417-423, 2023.

ESTELLITA, M. C. A. *et al.* Análise do coronavírus SARS-CoV-2 / COVID-19 no cenário atual da pandemia mundial: revisão de literatura. **Braz J Health Rev**, v. 3, n. 3, p. 7058-7072, 2020.

FAUSTINI, J. B. *et al.* Produção de anticorpos e citocinas em resposta ao SARS-CoV-2: comparação entre imunidade vacinal e híbrida. **Rev Inst Adolfo Lutz**, v. 83, n. 1, p. e40020(1-6), 2024.

FRANÇA, E. B. *et al.* Óbitos por COVID-19 no Brasil: quantos e quais estamos identificando. **Rev Bras Epidemiol**, v. 23, n. 1, p. e200053(1-7), 2020.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Até quando surgirão novas variantes do coronavírus?** Porto Velho, RO: Fiocruz, [2023]. Disponível em: <https://www.rondonia.fiocruz.br/entrevista-ate-quando-surgirao-novas-variantes-do-coronavirus/>. Acesso em: 16 out. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **Fiocruz atua na detecção de nova variante do vírus Sars-CoV-2 no Brasil.** Rio de Janeiro, RJ: Fiocruz, [2024]. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/fiocruz-atua-na-deteccao-de-nova-variante-do-virus-sars-cov-2-no-brasil>. Acesso em: 16 out. 2024.

FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ. **O que é uma Pandemia.** Rio de Janeiro, RJ: Fiocruz, [2020]. Disponível: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/1763-o-que-e-uma>. Acesso em: 24 out. 2024.

GASPAR, E. B. *et al.* **Diagnóstico veterinário por ensaio imunoadsorvente ligado à enzima: revisão atualizada.** Bagé, RS: Embrapa Pecuária Sul, 2015. (Documentos/Embrapa Pecuária Sul).

GUIOMAR, R. *et al.* Monitoring of SARS-CoV-2 Specific Antibodies after Vaccination. **Vaccines (Basel)**, v. 10, n. 2, p. 154, 2022.

HOFFMANN, M. *et al.* A multibasic cleavage site in the spike protein of SARS-CoV-2 is essential for infection of human lung cells. **Molecular Cell**, v. 78, n. 4, p. 779-784, 2020.

INSTITUTO BUTANTAN. **Entenda a diferença dos sintomas da gripe e da Covid-19 e a importância de continuar se vacinando anualmente.** São Paulo, SP: Instituto Butantan, 2023. Disponível em: <https://butantan.gov.br/noticias/entenda-a-diferenca-dos-sintomas-da-gripe-e-da-covid-19-e-a-importancia-de-continuar-se-vacinando-anualmente>. acesso em: 18 set. 2024.

INSTITUTO BUTANTAN. **Quanto tempo preciso esperar para tomar outra vacina após a CoronaVac?** São Paulo, SP: Instituto Butantan, [2020 ou 2021]. Disponível em: <https://butantan.gov.br/covid/butantan-tira-duvida/tira-duvida-noticias/quanto-tempo-preciso-esperar-para-tomar-outra-vacina-apos-a-coronavac#:~:text=Ap%C3%B3s%20receber%20a%20imuniza%C3%A7%C3%A3o%20contra,se%20imunizar%20contra%20Covid%2D19>. Acesso em: 08 mar. 2025.

IWAMOTO, N. *et al.* High diagnostic accuracy of quantitative SARS-CoV-2 Spike-binding-IgG assay and correlation with *in vitro* viral neutralizing activity. **Heliyon**, v. 10, n. 2, p. e24513, 2024.

JUNQUEIRA, C. *et al.* FcγR-mediated SARS-CoV-2 infection of monocytes activates inflammation. **Nature**, v. 606, n. 1, p. 576-584, 2022.

LEAL, G. G. *et al.* Imunopatologia inflamatória da COVID-19 e sua correlação com a gravidade da doença. **SciELO Preprints**, v. 1, n. 1, p. 1-24, 2024.

LI, Q. *et al.* SARS-CoV-2 501Y.V2 variants lack higher infectivity but do have immune escape. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2362, 2021.

LIMA, L. D. C. *et al.* Teste de antígeno para identificar pacientes assintomáticos/ ou não, infectados com Sars-Cov-2 - (COVID-19): revisão sistemática. **Braz J Health Rev**, v. 7, n. 9, p. 1-18, 2024.

LIMA, L. N. G. C. *et al.* As descobertas genômicas do SARS CoV-2 e suas implicações na pandemia de COVID-19. **J Health Biol Sci**, v. 8, n. 1, p. 1, 2020.

LIPSITCH, M. *et al.* SARS-CoV-2 breakthrough infections in vaccinated individuals: measurement, causes and impact. **Nat Rev Immunol**, v. 22, n. 1, p. 57-65, 2022.

LONG, Q-X. *et al.* Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. **Nat Med**, v. 26, n. 6, p. 845-848, 2020.

LOPES, R. L. *et al.* Covid-19 e sua relação com a hipertensão arterial sistêmica: uma revisão bibliográfica. **Rev Eletr Acervo Saúde**, v.13, n. 11, p. 1-7, 2021.

MA, H. *et al.* Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. **Cell Mol Immunol**, v. 17, n. 7, p. 773-775, 2020.

MATO GROSSO DO SUL. Centro de Operações de Emergências. **Recomendações técnicas sobre a utilização dos testes diagnósticos para SARS-CoV-2 e para retestagem laboratorial diante de resultados divergentes de COVID-19**. Campo Grande, MS: COE/ MS, 2020. Disponível em: <https://www.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2020/06/Recomenda%C3%A7%C3%B5es-t%C3%A9cnicas-COE-sobre-a-utiliza%C3%A7%C3%A3o-dos-testes-diagn%C3%B3sticos-para-COVID-19-e-para-retestagem-laboratorial-diante-de-resultados-divergentes-de-COVID-19-4.pdf>. Acesso em: 27 set. 2024.

MATOS, V. L. F. *et al.* A técnica de ELISA e a sua importância para o diagnóstico clínico. **Braz J Develop**, v. 7, n. 9, p. 89877-89885, 2021.

MEDEIROS, T. *et al.* Análise temporal das concentrações de IgA e IgG em pacientes hospitalizados com Covid-19 de acordo com o desfecho clínico. **J Bras Patol Med Lab**, v. 57, n. 1, p. 1-8, 2021.

MELO, E. L. C. M. **Perfil Epidemiológico da Covid-19 no Município de Bacabal, Maranhão**. 2024. 45 f. Monografia (Graduação Ciências Naturais Biologia) - Universidade Federal do Maranhão, Bacabal, 2024.

MERAD, M. *et al.* The immunology and immunopathology of COVID-19. **Sci** **375**, v. 375, n. 6585, p. 1122-1127, 2022.

MILL, J. G.; POLESE, J. Síndrome Pós-COVID ou COVID longa: um novo desafio para o Sistema de Saúde. **Arq Bras Cardiol**, v. 120, n. 11, p. e20230750, 2023.

MINAS GERAIS. Secretaria de Estado de Saúde. **Notas recomendação Covid 19**. Belo Horizonte, BH: Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais, [2020]. Disponível: <https://coronavirus.saude.mg.gov.br/blog/81-taxa-de-mortalidade-da-covid-19>. Acesso em: 16 fev. 2025.

MIRANDA, K. G. **Expressão e purificação da proteína nucleocapsídica recombinante de SARSCoV-2**. 2023. 39 f. Monografia (Especialização em Biotecnologia para a Saúde - Vacinas e Biofármacos) - Escola Superior do Instituto Butantan, São Paulo, 2023.

MODROW, S. *et al.* Viruses with single-stranded, positive-sense RNA genomes. **Mol Virol**, v. 1, n. 1, p. 185-349, 2013.

NAÇÕES UNIDAS. **OMS identifica patógenos que podem causar futuros surtos e pandemias-Doença X**. Nova Iorque, EUA, [2022]. Disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2022/11/1805682>. Acesso em: 10 out. 2024.

NAÇÕES UNIDAS. **Organização Mundial da Saúde declara novo coronavírus uma pandemia**. Nova Iorque, EUA, [2020]. Disponível em: <https://news.un.org/pt/story/2020/03/1706881>. Acesso em: 09 out. 2024.

NEVES, N. A.; KFOURI, R. A; ROBIAL R. Conceitos básicos e imunologia em vacinação. *In*: Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia. **Programa vacinal para mulheres**. 2. ed. São Paulo: FEBRASGO, 2021. Cap. 2, p. 6-23. (Série Orientações Recomendações FEBRASGO, n.1).

NISHIOKA, S. A. **Variantes de preocupação e de interesse do novo coronavírus têm novas definições de trabalho e sistema de rastreamento**. Brasília, DF: UNASUS, [2023]. Disponível em: <https://www.unasus.gov.br/especial/covid19/markdown/619>. Acesso em: 05 set. 2024.

NOGUEIRA, J. V. D. Conhecendo a origem do SARS-COV-2 (COVID 19). **Rev Saúde Meio Ambient**, v. 11, n. 2, p. 115-124, 2020.

OLIVEIRA, E. C. **Avaliação da resposta Imune humoral contra cepa ancestral e variantes Gama, Delta e Ômicron do SARS-Cov-2 em indivíduos vacinados**. 2022. 154 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2022.

OLIVEIRA, E. S. *et al.* Perspectiva de resultados falso-negativos no teste de RT-PCR quando realizado tardiamente para o diagnóstico de COVID-19. **InterAm J Med Health**, v. 3, n. 1, p. e202003016, 2020.

OLIVEIRA, M. A. L. *et al.* Testes diagnósticos para o SARS-COV-2: uma reflexão crítica. **Quim Nova**, v. 45, n. 6, p. 760-766, 2022.

OLIVEIRA, M. J. S. *et al.* Resposta imune humoral anti-SARS-CoV-2 para diferentes cepas virais após vacinação completa com Sinovac-CoronaVac e Oxford/ Astra Zeneca (ChAdOx1-S) em uma população de trabalhadores da saúde no Brasil. **Rev Uningá**, v. 61, n. 1, p. eUJ4570(1-9), 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Atualização epidemiológica da COVID-19- 13 de Fevereiro 2025**. Genebra, CH: OMS, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-epidemiological-update-edition-176>. Acesso em: 17 fev. 2025

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Definições de trabalho atualizadas e ações primárias para variantes do SARS-CoV-2**. Genebra, CH: OMS, 2023. Disponível: <https://www.who.int/publications/m/item/updated-working-definitions-and-primary-actions-for--sars-cov-2-variants>. Acesso em: 16 out. 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Rastreamento de variantes do SARS-CoV-2**. Genebra, CH: OMS, 2024. Disponível em: <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants>. Acesso em: 15 out. 2024.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **OMS afirma que COVID-19 é agora caracterizada como pandemia**. Washington, EUA: OPAS, [2020]. Disponível em <https://www.paho.org/pt/news/11-3-2020-who-characterizes-covid-19-pandemic>. Acesso em: 09 out. 2024.

PAN, Y. *et al.* Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. **J Infect**, v. 81, n. 1, p. e28-e32, 2020.

PESSANHA, K. F. *et al.* Covid-19: da infecção respiratória aos distúrbios cardiovasculares. **Rev Cient Fac Med Campos**, v. 16, n. 1, p. 79-89, 2021.

PINTO, A. V. *et al.* Proteínas virais no protein data bank. **Rev Ciênc Elem**, v. 8, n. 2, p. 22, 2020.

PUHACH, O.; MEYER, B.; ECKERLE, SARS-CoV-2 viral load and shedding kinetics. **Nat Rev Microbiol**, v. 21, n. 3, p. 147-161, 2023.

QUEIROZ, D. B. Impacto da pandemia de Covid-19 na saúde mental e hipertensão em adolescentes: uma revisão da literatura. **Rev Cient Multidiscipl Lattice**, v. 1, n. 1, p. 1-18, 2024.

QUEIROZ, L.V. P. *et al.* Diabetes e COVID-19: Casos, óbitos e letalidade após o primeiro ano de pandemia na Bahia. **D&C**, v. 2, n. 1, p. 235-245, 2022.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **J Autoimmun**, v. 109, n. 102433, p. 1-5, 2020.

SANTOS NETO, A. G. *et al.* COVID-19: Metodologias de diagnóstico. **Res Soc Dev**, v. 10, n. 5, e48810515114(1-15), 2021.

SCHMIDT, G. B. **Desempenho e acurácia de teste de quimioluminescência para detecção de anticorpos contra o SARS-CoV-2: uma análise post-hoc do PLACOVID trial**. 2023. 65 f. Dissertação (Mestrado em Medicina - Ciências Médicas) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, 2023.

SCHUELER, P. **O que é uma pandemia**. Rio de Janeiro, RJ: Fiocruz, [2020]
Disponível: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/br/noticias/1763-o-que-e-uma>.
Acesso em: 24 out. 2024.

SEVERO SANTOS, J. F. D.; SANTOS, D. Hierarquia de sintomas de Gripe relacionados à COVID-19 de acordo com sexo e cor ou raça em notificações de pacientes com Síndrome Respiratória Aguda Grave no Brasil. **SciELO Preprints**, v. 1, n. 1, p. 1-15, 2024.

SHEN, B. *et al.* Clinical evaluation of a rapid colloidal gold immunochromatography assay for SARS-Cov-2 IgM/IgG. **Am J Transl Res**, v. 12, n. 4, p. 1348-1354, 2020.

SILVA, C. R. L. T. **COVID-19: avaliação da imunidade humoral em profissionais de saúde e em utentes de lares**. 2023. 81 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas à Saúde) - Instituto Politécnico de Bragança; Instituto Politécnico da Guarda, Bragança, PT, 2023

SILVA, D. N. **Padronização e validação de um teste imunoenzimático quantitativo anti-SARS-CoV-2**. 2021. 79 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, SE, 2021.

SILVA, F. G. **Análise do processo de construção de competências em um contexto de inovação tecnológica por demanda emergencial: um estudo de caso sobre o desenvolvimento dos kits diagnósticos para a COVID-19 no CT-Vacinas/UFMG**. 2023. 91 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Inovação Tecnológica e Propriedade Intelectual) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG, 2023.

SILVA, R. B. *et al.* Eventos adversos pós-vacinação contra o SARS-CoV-2 (Covid-19) no estado de Minas Gerais. **Rev Saúde Pública**, v. 55, n. 1, p. 66(1-10), 2021a

SILVA, R. R. **Vacinação: direito ou dever? A emergência de um paradoxo sanitário e suas consequências para a saúde pública**. 2018. 153 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2018.

SILVA, T. M. R. *et al.* Vacinas contra a COVID-19: principais plataformas e bases imunológicas. *In:* SILVA, T. M. R.; LIMA, M. G. (Org.). **Estratégias de vacinação contra a COVID-19 no Brasil: capacitação de profissionais e discentes de enfermagem.** Brasília, DF: ABen; 2021b.

SOBREIRA, M. L. *et al.* Vacinas para covid-19 e complicações tromboembólicas. **J Vasc Bras**, v. 20, n. 1, p. e20210167, 2021.

SRIVASTAVA, K. *et al.* SARS-CoV-2-infection- and vaccine-induced antibody responses are long lasting with an initial waning phase followed by a stabilization phase. **Immunity**, v. 57, n. 3, p. 587-599, 2024.

TABATABAI, M. *et al.* An analysis of COVID-19 mortality during the dominance of alpha, delta, and omicron in the USA. **J Prim Care Community Health**, v. 14, n. 1, p. 1-9, 2023.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS. **Quem somos.** Belo Horizonte, MG: Centro de Tecnologia de Vacinas da UFMG, 2025. Disponível em: <https://ctvacinas.ufmg.br/quemsomos>. Acesso em: 07 fev. 2025

VAZ, A. J. *et al.* **Imunoensaios:** fundamentos e aplicações. Ciências Farmacêuticas. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2018.

VITHANI, N. *et al.* SARS-CoV-2 Nsp16 activation mechanism and a cryptic pocket with pan-coronavirus antiviral potential. **BioRxiv**, v. 120, n. 14, p. 2880-2889, 2021.

VOGL, T. *et al.* SARS-CoV-2 antibody testing for estimating COVID-19 prevalence in the population. **Cell Rep Med**, v. 2, n. 2, p. 1-12, 2021.

YAN, L. N. *et al.* Neutralizing antibodies and T-cell responses to inactivated SARS-CoV-2 vaccine in COVID-19 convalescents one and a half years after infection. **Virus Res**, v. 323, n. 3, p. 198977, 2023.

ZHENG, J. *et al.* Characterization of SARS-CoV-2-specific humoral immunity and its potential applications and therapeutic prospects. **Cell Mol Immunol**, v. 19, n. 2, p. 150-157, 2022.

ANEXO I: TERMO DE APROVAÇÃO DO CÔMITE DE ÉTICA

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Estudo comparativo do perfil da resposta imune entre diferentes vacinas para COVID-19 e dados clínico-epidemiológicos

Pesquisador: Luiz Cosme Cotta Malaquias

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 58841422.5.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.759.699

Apresentação do Projeto:

Emenda do estudo proposto pelo pesquisador responsável, do Instituto de Ciências Biomédicas da UNIFAL-MG. Trata-se de um estudo que objetiva a avaliação do perfil da imunidade induzida por diferentes tipos de vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico epidemiológicos de 400 indivíduos da Comunidade Acadêmica da UNIFAL-MG. Não manifestam conflitos de interesse. Este projeto foi submetido ao edital Universal 2022 da FAPEMIG para fomento e está aguardando avaliação.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar o perfil da imunidade humoral e celular induzida por diferentes vacinas contra o SARS-CoV-2 e sua associação com fatores clínico epidemiológicos.

Objetivo Secundário:

- Avaliar por ELISA o título de anticorpos IgG contra as proteínas S e N do SARSCoV-2.
- Avaliar qualitativamente por teste rápido fluorescente a presença de anticorpos neutralizantes.
- Avaliar por citometria de fluxo em sobrenadante de cultura de PBMC estimulados por antígenos do perfil TH1, TH2, TH17 e Treg
- Correlacionar a expressão do título de anticorpos e perfil de citocinas com o tipo de vacinas e as variáveis clínico-epidemiológicas.

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
Bairro: centro **CEP:** 37.130-001
UF: MG **Município:** ALFENAS
Telefone: (35)3701-9153 **Fax:** (35)3701-9153 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALFENAS



Continuação do Parecer: 5.759.699

Avaliação do CEP:

- a. objetivos claros e bem definidos;
- b. coerentes com a propositura geral do projeto;
- c. exequível (considerando tempo, recursos, metodologia etc.)

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os pesquisadores descrevem diversos riscos, desde o preenchimento do questionário com informações sobre o tipo de vacina, quantas doses, dose de reforço, o tempo transcorrido entre as doses, se teve reação colateral e se teve Covid-19, bem como em relação aos riscos relacionados à coleta de sangue. Apresentam medidas preventivas e minimizadoras para todos os riscos apresentados.

Em relação aos benefícios, o indivíduo terá conhecimento sobre a imunidade induzida pela vacinação para Covid-19. Essa informação é importante para que ele se sinta seguro quanto a imunidade protetora induzida pela vacinação. Quanto aos resultados da pesquisa, o concedente terá o acesso gratuito a quaisquer informações associadas ao material biológico armazenado no Biobanco, assim como o acesso gratuito aos resultados obtidos de pesquisas que fizeram uso do material. Para sociedade: saber se os esquemas vacinais atuais estão induzindo imunidade protetora e por quanto tempo.

Análise do CEP:

- a. Os riscos de execução estão descritos no projeto e apresentam medidas preventivas e minimizadoras coerentes.
- b. Há benefícios oriundos da execução do projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A emenda trata-se da alteração da metodologia do estudo. A amostragem seria realizada através do banco de dados institucional denominado "Vacinas Covid-19". Infelizmente isso não será possível, pois o Comitê Gestor da Política de Privacidade e Proteção de Dados Pessoais (CGPPDP) não autorizou por causa da Lei Geral de Proteção de Dados Pessoais (LGPD). Em vista da impossibilidade de acesso ao banco de dados conforme anteriormente planejado e aprovado pelo CEP, o contato e seleção dos consulentes foram alterados e houve adequação nos formulários TCLE e TCUD. Na nova metodologia, os consulentes da pesquisa serão consultados quanto a sua participação no projeto via e-mail institucional.

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
 Bairro: centro CEP: 37.130-001
 UF: MG Município: ALFENAS
 Telefone: (35)3701-9153 Fax: (35)3701-9153 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

Continuação do Parecer: 5.759.699

Os participantes serão agendados para aplicação de questionário e duas coletas de sangue com intervalo de 6 meses entre elas. Os dados coletados via instrumento de coleta versarão sobre o histórico de vacinação (tipo de vacina, número de doses, data da vacinação), efeitos adversos, dados clínicos epidemiológicos (idade, gênero, se teve Covid-19, se fez teste para Covid-19).

Análise do CEP:

- a. Metodologia da pesquisa – adequada ao objetivo do projeto.
- b. Referencial teórico da pesquisa – atualizado e suficiente para aquilo que se propõe;
- c. Cronograma de execução da pesquisa – coerente com os objetivos propostos e adequado ao tempo de tramitação do projeto no CEP.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- a. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) – presente e adequado
- b. Termo de Assentimento (TA) – não se aplica
- c. Termo de Assentimento Esclarecido (TAE) – não se aplica
- d. Termo de Compromisso para Utilização de Dados e Prontuários (TCUD) – presente e adequado
- e. Termo de Anuência Institucional (TAI) – presente e adequado.
- f. Folha de rosto - presente e adequada.
- g. Projeto de pesquisa completo e detalhado - presente e adequado.
- h. Declaração de compromisso do pesquisador responsável - presente e adequada
- i. Termo de Compromisso para desenvolvimento de protocolos de pesquisa no período da pandemia de Coronavírus (COVID-19): presente e adequado

Recomendações:

Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Recomenda-se a aprovação da emenda.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este CEP emite parecer após reunião remota ordinária.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_201479_4_E1.pdf	13/09/2022 14:21:33		Aceito
Outros	JustificativaEmenda.pdf	13/09/2022	Luiz Cosme Cotta	Aceito

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
 Bairro: centro CEP: 37.130-001
 UF: MG Município: ALFENAS
 Telefone: (35)3701-9153 Fax: (35)3701-9153 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

Continuação do Parecer: 5.759.699

Outros	JustificativaEmenda.pdf	14:20:16	Malaquias	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRJemendamod.doc	13/09/2022 14:18:44	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Outros	TCUDPROGEPE.pdf	09/09/2022 08:50:40	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Outros	Termo_Pan.pdf	16/05/2022 15:50:38	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Outros	Decl_Compr.pdf	16/05/2022 15:50:05	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Outros	TAI_modi.pdf	16/05/2022 15:48:33	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Folha de Rosto	FR.pdf	12/05/2022 13:50:02	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
Outros	QS.doc	10/05/2022 15:15:09	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEnovo.docx	10/05/2022 15:13:20	Luiz Cosme Cotta Malaquias	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ALFENAS, 16 de Novembro de 2022

Assinado por:

DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA
 (Coordenador(a))

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
 Bairro: centro CEP: 37.130-001
 UF: MG Município: ALFENAS
 Telefone: (35)3701-9153 Fax: (35)3701-9153 E-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br

ANEXO II: QUESTIONÁRIO

Estudo comparativo do perfil da resposta imune humoral entre diferentes vacinas para COVID-19 e dados clínico-epidemiológicos

Prof. Luiz Cosme Cotta Malaquias – Laboratório de Vacinas/UNIFAL-MG

* Indica uma pergunta obrigatória **Convite para participação de pesquisa**

Prezado Servidor/Servidora,

Iniciamos em fevereiro deste ano uma etapa do projeto de pesquisa que tem como objetivo avaliar a imunidade das pessoas vacinas contra Covid-19. Estamos realizando mais uma etapa do projeto e nosso objetivo é continuar a avaliar a imunidade das pessoas que ainda não foram vacinadas com a Vacina Bivalente da Pfizer. Se você não tomou a vacina Bivalente, gostaria de convidá-lo/la para participar dessa etapa do projeto. Para isso é necessário dar a concordância no formulário e preencher os dados do questionário (tipo de vacina, datas, e se teve Covid e uma pequena amostra de sangue para quantificar anticorpos contra o vírus. A amostra de sangue será coleta por profissional treinado no Laboratório de Análises Clínicas - LACEN, da UNIFAL-MG, em data a ser agendada. Os dados do projeto serão utilizados por um discente do mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – PPGCB. O sigilo é garantido por lei. Caso você tenha dúvidas sobre o preenchimento dos dados ou necessite de outras informações e esclarecimentos, pode entrar em contato que irei esclarecer todas as dúvidas. Aos servidores/servidoras que já participaram da pesquisa, peço que desconsiderem está msg.

Muito obrigado.

Atenciosamente.

Prof Luiz Cosme Cotta Malaquias luiz.malaquias@unifal-mg.edu.br

Telefone para contato: xxxxxxxx

1. E-mail *
2. Declaro que fui informado (a), que li o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e que estou de acordo com a participação voluntária na pesquisa acima descrita.

Marcar apenas uma oval.

Sim, aceito participar como voluntário (a) na pesquisa.

Não, não aceito participar.

Identificação e características demográficas

3. Nome *

4. Data de Nascimento *

5. Telefone de contato *

6. Idade *

7. Sexo * *Marcar apenas uma oval.*

Masculino

Feminino

Histórico de Vacinação

Preencher todas as vacinas tomadas, independentemente do número de vacinas tomadas

8. Data da 1ª dose *Exemplo: Exemplo de janeiro de 2019*

9. Data da 2ª dose *Exemplo: Exemplo de janeiro de 2019*

10. Data da 3ª dose (reforço)

11. Data da 4ª dose (reforço)

12. Observação

Evento Adverso Pós Vacinação (EAPV) Data da 2ª dose

13. Teve efeitos adversos pós vacinação? *

Sim

Não

14. Quais?

Histórico de COVID-19

15. Você teve COVID-19? *

Sim

Não

Qual tipo de teste para COVID-19 foi realizado? *

RT-PCR

Teste rápido

Diagnóstico clínico

Nenhum teste