



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

BRENDA WINONA DOS SANTOS

DETECÇÃO DE SARS-CoV-2 E PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-SARS-CoV-2 EM FELÍDEOS E FUNCIONÁRIOS DE CONTATO NO ZOOLOGICO MUNICIPAL DE CURITIBA.

CURITIBA

2022

BRENDA WINONA DOS SANTOS

DETECÇÃO DE SARS-CoV-2 E PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-SARS-CoV-2 EM FELÍDEOS E FUNCIONÁRIOS DE CONTATO NO ZOOLOGICO MUNICIPAL DE CURITIBA.

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular, no Curso de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular, Setor de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Alexander Welker Biondo
Co-orientadora: Dr^a Louise Back Kmetiuk

CURITIBA
2022

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Santos, Brenda Winona dos

Detecção de SARS-CoV-2 e presença de anticorpos anti-SARS-CoV-2 em felídeos e funcionários de contato no Zoológico Municipal de Curitiba / Brenda Winona dos Santos. – Curitiba, 2022.

1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular.

Orientador: Prof. Dr. Alexander Welker Biondo.

Coorientadora: Dr^a Louise Back Kmetiuk.

1. Jardins zoológicos. 2. SARS-CoV-2. 3. Felídeo. 4. COVID-19 (doença). I. Biondo, Alexander Welker, 1968-. II. Kmetiuk, Louise Bach, 1990-. III. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular. IV. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva CRB-9/1406

TERMO DE APROVAÇÃO



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOLOGIA CELULAR E
MOLECULAR - 40001016007P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **BRENDA WINONA DOS SANTOS** intitulada: **DETECÇÃO DE SARS-COV-2 E PRESENÇA DE ANTICORPOS ANTI-SARS-COV-2 EM FELÍDEOS E FUNCIONÁRIOS DE CONTATO NO ZOOLOGICO MUNICIPAL DE CURITIBA.**, sob orientação do Prof. Dr. ALEXANDER WELKER BIONDO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 14 de Outubro de 2022.

Assinatura Eletrônica

19/10/2022 15:37:02.0

ALEXANDER WELKER BIONDO
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

19/10/2022 11:22:09.0

RAPHAEL ROLIM DE MOURA

*Dedico este trabalho aos meus grandes tesouros,
pai e mãe.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar sempre gostaria de agradecer a Deus pela força diária e pela misericórdia inacabável por mim e por todos que amo.

Em especial enaltecer e agradecer de todo meu coração a paciência, o incentivo e o amor de minha mãe Sueli (*in memoriam*) e meu pai Celso. Ao meu pai, meu mais sincero agradecimento por sempre ser companheiro, amigo e conselheiro em todos os momentos de minha vida, esta conquista é tão minha quanto sua. Amo vocês, mãe e pai.

Agradeço muito ao meu orientador Prof. Dr. Alexander Welker Biondo e minha co-orientadora Dr^a Louise Back Kmetiuk por me darem a oportunidade de voltar a estudar e produzir, por toda paciência e afincamento nesse projeto e em todos os outros, além de todo carinho e compreensão em todos os momentos.

Agradeço imensamente aos meus colegas de estudo que me apoiaram e me ajudaram nessa jornada.

Ao Programa de Pós-graduação da UFPR pelo apoio as atividades de pesquisa.

Nos últimos meses várias pessoas me ajudaram e me incentivaram, gostaria de agradecer a todos que contribuíram para meu crescimento direta ou indiretamente.

O meu sincero, muito obrigada!

*“Nada é tão grande que não possa ser alcançado
e nada é tão pequeno que não seja importante”*

Allan Kardec

RESUMO

As zoonoses são doenças que acometem tanto animais quanto seres humanos e são de interesse clínico de longa data. Os coronavírus (CoV) pertencem a uma família de vírus que acometem animais e humanos, podendo causar infecções respiratórias leves, moderadas e graves. O membro mais novo da família causador de infecções em humanos foi detectado em 2019 na China sendo nomeado como SARS-CoV-2 (Síndrome Respiratória Aguda grave 2), responsável por vários casos de pneumonia na cidade de Wuhan, o novo coronavírus espalhou-se rapidamente por todos os continentes, sendo decretada pandemia em 11 de março de 2020 pela Organização Mundial de Saúde (OMS). Os animais selvagens de cativeiro podem ser infectados pelo SARS-CoV-2, devido ao convívio com tratadores ou profissionais de contato. Alguns casos nos Estados Unidos da América (EUA), em Barcelona, Espanha e na Holanda foram reportados em animais de fazendas de criação e em animais silvestres de cativeiro. Diante da atual pandemia de COVID-19 e do relatos em outros zoológicos, o estudo permitiu verificar se há infecção em felídeos, que são considerados suscetíveis à infecção, e funcionários de contato por testes de RT-PCR, e também por testes sorológicos os funcionários do Zoológico Municipal de Curitiba para análise do desenvolvimento de anticorpos específicos e correlação a resposta vacinal. O Zoológico Municipal de Curitiba está entre os cinco maiores do Brasil, com 2.300 animais pertencentes à aproximadamente 300 espécies, distribuídas em 530 metros quadrados de área, este estudo é um dos pioneiros na testagem de felídeos de Zoológico na América do Sul. Nos funcionários de contato foram realizadas duas coletas de amostras para teste RT-PCR e duas coletas de amostras de sangue para sorologia. Entre os funcionários durante a primeira coleta realizada antes da primeira dose da vacina contra COVID-19 um funcionário foi positivo, na segunda coleta todos os testes de RT-PCR foram negativos.

Palavras chave: Zoológico; SARS-CoV-2; Felídeos, COVID-19.

ABSTRACT

Zoonoses are diseases that affect animals and humans and are of long-standing clinical interest. Coronaviruses (CoV) belong to a family of viruses that affect animals and humans and cause mild to severe respiratory infections. The newest member of the family that causes infections in humans was detected in 2019 in China, being named as SARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome 2), responsible for several cases of pneumonia in the city of Wuhan, the new coronavirus spread rapidly across all continents, being declared a pandemic on March 11, 2020 by the World Health Organization (WHO). Captive wild animals can be infected with SARS-CoV-2, due to living with caretakers or contact professionals. Some cases in the United States of America (USA), Barcelona, Spain and the Netherlands have been reported in farm animals and in captive wild animals. In light of the current COVID-19 pandemic and the reports in other zoos, the study allowed to verify whether there is infection in felids, which are considered susceptible to infection, and contact employees by RT-PCR tests, as well as by serological tests. from the Curitiba Municipal Zoo to analyze the development of specific antibodies and correlation with vaccine response. The Curitiba Municipal Zoo is among the five largest in Brazil, with 2,300 animals belonging to approximately 300 species, distributed in 530 square meters of area, this study is one of the pioneers in the testing of zoo felids in South America. In contact employees, two sample collections were performed for RT-PCR test and two collections of blood samples for serology. Among employees during the first collection performed before the first dose of the vaccine against COVID-19, one employee was positive, in the second collection all RT-PCR tests were negative.

Keywords: Zoo; SARS-CoV-2; Felids, COVID-19.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 - CICLO VIRAL SARS-CoV-2.....	16
--	----

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 - SINAL EM % DE IGG ANTI-SARS-CoV-2 NOS PARTICIPANTES.....	26
GRAFICO 2 - RESPOSTA IMUNOLÓGICA (EM %*10-1) EM FUNÇÃO DOS GRUPOS DE APLICAÇÃO DAS VACINAS.....	28

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - ANIMAIS TESTADOS.....	30
----------------------------------	----

LISTA DE ABREVIATURAS E/OU SIGLAS

SARS-CoV-2 – Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
USDA - United States Department Of Agriculture
OIE - Office International des Epizooties (World Organization For Animal Health)
ECA2 – Enzima Conversora de Angiotensina 2
MS- Ministério da Saúde
HIV - Human Immunodeficiency Virus
CoV - Coronavírus
HCoV – Coronavírus Humano
MERS-COV - Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus
OMS – Organização Mundial da Saúde
COVID-19 - Coronavirus Disease 2019
UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais
MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
UFPR – Universidade Federal do Paraná
UNA-SUS - Universidade Aberta do Sistema Único de Saúde
IGG – Imunoglobulina G
PR - Paraná
PNI – Programa Nacional de Imunizações
RNA - Ribonucleic Acid
AZ - Astrazeneca
CV - Coronavac
PF - Pfizer
GLM - General Linear Model
RT-PCR - Reverse Transcription – Polymerase Chain Reaction
PCR - Polymerase Chain Reaction
KG - Kilogramas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3	OBJETIVOS	19
	3.1 Objetivo geral	19
	3.2 Objetivos específicos	19
4	MATERIAL E MÉTODOS	20
	4.1 Recrutamento dos participantes da pesquisa	20
	4.2 Aplicação de questionários epidemiológicos	20
	4.3 Coleta saliva e de sangue total de seres humanos funcionários do Zoológico Municipal de Curitiba	20
	4.4 Coleta de swab orofaríngeo e nasofaríngeo de felídeos do Zoológico Municipal de Curitiba	21
	4.5 Detecção de SARS-CoV-2 por RT-PCR	21
	4.6 Análises sorológicas	21
	4.7 Metodologia de Análise dos dados	22
5	PRODUÇÃO CIENTÍFICA	24
	5.1 <i>Molecular and serological testing for SARS-CoV-2 in wild felids and workers at the Curitiba Zoo, southern Brazil</i>	24
6	DISCUSSÃO	31
	6.1 Sorologia para IgG anti-SARS-CoV-2 em humanos	31
	6.2 RT-PCR realizados nas amostras dos participantes	28
	6.3 Animais testados	28
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
8	REFERÊNCIAS	35
	ANEXO A – APROVAÇÃO DE APOIO A ATIVIDADES DE PESQUISA	45
	ANEXO B - QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO – HUMANOS	47
	ANEXO C - FICHA EPIDEMIOLÓGICA – ANIMAIS	48

1 INTRODUÇÃO

O primeiro caso de animal selvagem com amostras positivas para SARS-CoV-2 foi anunciado em abril de 2020 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) sendo uma fêmea de tigre-malaio do zoológico do Bronx, na cidade de Nova York (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2021). As amostras de swabs foram coletadas e testadas após dois tigres malaios, três tigres-siberianos e três leões-africanos apresentarem sinais respiratórios ao longo de uma semana (LAU, 2020). Suspeita-se que a fonte de infecção tenha sido um tratador assintomático (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (A) – OIE, 2020). Além da fêmea de tigre-malaio, um dos leões africanos e um tigre siberiano assintomático testaram positivo para SARS-CoV-2 na RT-PCR no mesmo zoológico (WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY NEWSROOM, 2020). Em dezembro de 2020, foram testados positivos quatro leões e dois tratadores do Zoológico de Barcelona, Espanha (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (C) – OIE, 2020). Outros casos foram comunicados pelo Ministério da Agricultura da Holanda de SARS-CoV-2 em visons (martas) em 2 fazendas (SHI, 2020). A infecção dos visons também parece ser um caso de infecção humano-animal (PROMED INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES (B), 2020) (MAURIN, 2021). Em Curitiba, temos um grande Zoológico com mais de 2370 animais, entre eles felídeos que tem o receptor ECA2 (receptor no qual o vírus se acopla para entrar na célula) mais semelhante ao dos humanos, tornando-os mais susceptíveis a infecção por SARS-CoV-2 (GARCIA,2009) (SHI, 2020). Em estudos já publicados, os animais possivelmente adquiriram o vírus de seus tratadores/cuidadores, no entanto não existem comprovações científicas de que esses animais possam funcionar como transmissores para humanos ou como reservatórios do vírus (AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION, 2020) (NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION, 2021). Devido a isso a testagem destes animais e profissionais de contato pode nos esclarecer melhor se há potencial transmissão entre humanos e animais e como é o processo de desenvolvimento ou não de sintomas caso isso ocorra e sobre a produção de anticorpos com ou sem sintomatologia antes da imunização em humanos e após a imunização comparando as vacinas usadas e os níveis de resposta humoral dos participantes.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A saúde humana e animal são parâmetros ligados de maneira permanente quando se diz respeito à Saúde Única envolvendo também os cuidados com o ambiente visando medidas públicas para o combate e prevenção de enfermidades em todos os níveis da sociedade (WANG, 2020) (GARCIA, 2009). Um dos focos voltados para Saúde Única, mundialmente adotada é a prevenção e o combate a zoonoses. Zoonoses são doenças transmitidas entre animais e humanos de forma natural (exemplos: Raiva, Leptospirose, Toxoplasmose, entre outras) (GARCIA, 2009). Atualmente são conhecidas mais de 200 zoonoses com distribuição global ou regional (em grupos vulneráveis) e que tem impacto significativo na qualidade de vida (aumentando morbidade e mortalidade) e com impacto econômico principalmente em países em desenvolvimento.

O crescimento populacional, urbanização, invasão florestal (desmatamento) e globalização do comércio de produtos de origem animal tem estreitado a integração humano-animal principalmente pelas mudanças nos ambientes naturais dos animais (BRASIL – MS, 2020). Alguns dados estimados pela OIE (World Organisation for Animal Health) tornam-se argumentos muito plausíveis para o foco no cuidado com a interação humano-animal, como:

- 60% das doenças infecciosas humanas conhecidas tem animais e/ou vetores envolvidos na transmissão;
- Pelo menos 75% das doenças infecciosas emergentes (incluindo Ebola, HIV e Influenza) tem animais e/ou vetores como ponto de origem do patógeno;
- Cinco doenças humanas aparecem todos os anos, aproximadamente 3 são de origem animal;
- 80% dos agentes com potencial de uso bioterrorista são patógenos zoonóticos.

Nas duas últimas décadas três patógenos do mesmo grupo de vírus foram identificados causando síndromes respiratórias não descritas anteriormente, os coronavírus (CoV) (YIN, 2018). São conhecidos até hoje mais de 40 estirpes de coronavírus (CoV) que pertencem a um grupo de vírus da família *Coronaviridae* e podem acometer humanos, outros mamíferos e aves causando infecções respiratórias leves á moderadas e intestinais (AZHAR, 2020). Agrupados na subfamília *Orthocoronavirinae* estão os gêneros *alpha*, *beta*, *delta* e *gama*

coronavírus (ZHOU, 2020). Já foram identificados até hoje, sete coronavírus causadores de infecções em humanos (HCoVs), todos eles estão alocados dentro dos gêneros *alpha* e *beta* coronavírus, são eles (YIN, 2018):

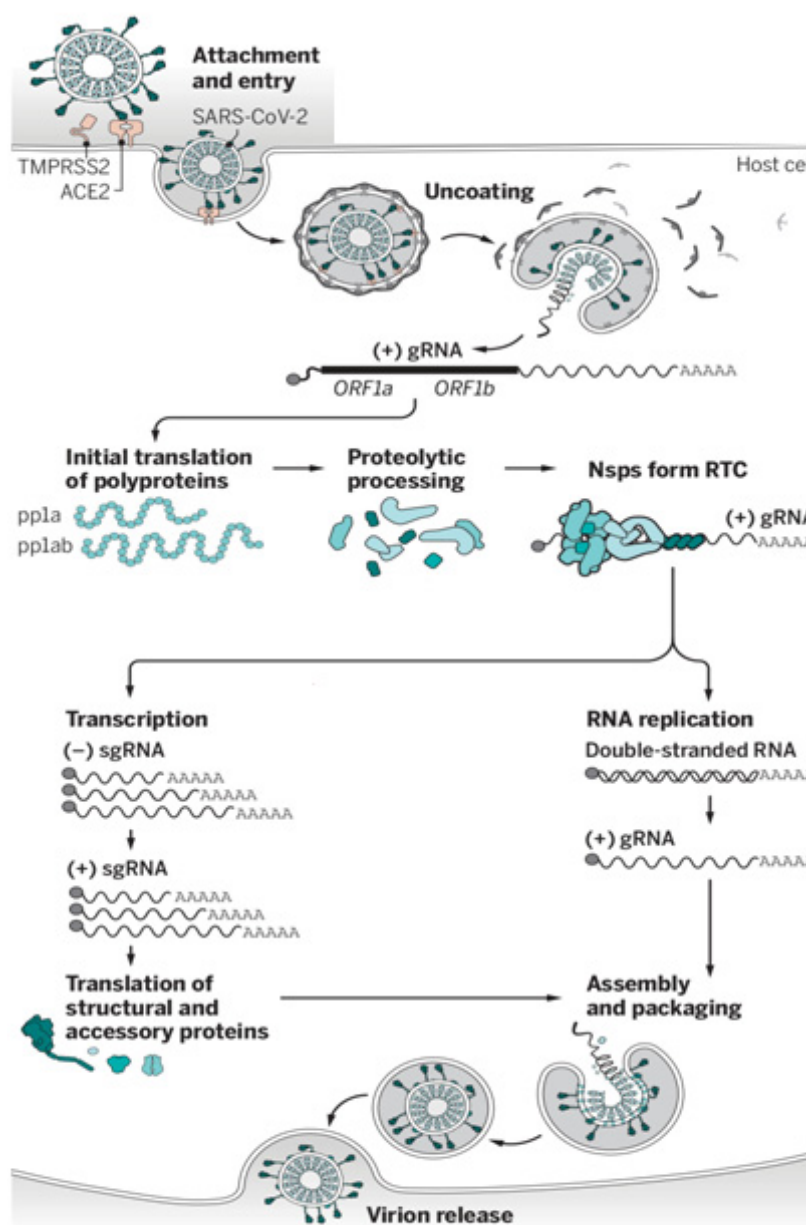
- HCoV-229E, responsável por causar resfriados comuns;
- HCoV-OC43, identificado no Reino Unido, também responsável por resfriados comuns, tendo circulação por todo planeta;
- HCoV-NL63, sendo as crianças mais propensas, este também causa resfriados comuns, foi identificado na Holanda em 2003 e hoje tem circulação mundial;
- HCoV-HKU1, identificado na China em 2005;
- SARS-CoV, causador da síndrome respiratória aguda grave, detectado na China em 2002, mais de 8 mil pessoas foram infectadas atingindo mais de 30 países (tendo uma taxa de mortalidade de 10%) (LI, 2005);
- MERS-CoV, causador da síndrome respiratória do Oriente Médio, foi detectado na Arábia Saudita em 2012 e os casos foram vinculados a pacientes que viajaram ou residiram na Península Arábica. Disseminou-se para 27 países e a taxa de mortalidade ficou entre 35% e 40% (AZHAR, 2020);
- e o membro da família com detecção mais recente causador de infecções em humanos o vírus SARS-CoV-2. Detectado pela primeira vez em 8 de dezembro de 2019 na China sendo causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2.

Os primeiros casos da doença caracterizados por uma pneumonia forte foram detectados na cidade de Wuhan (Província de Hubei, China) (ZHANG, 2020). Ainda sem identificação do patógeno, as infecções foram notificadas a Organização Mundial da Saúde como alerta em 31 de dezembro de 2019 (LIU, 2019). O vírus foi reconhecido como uma nova estirpe do grupo dos coronavírus em 07 de janeiro de 2020, pelas autoridades chinesas e espalhou-se rapidamente por todos os continentes, sendo decretada pandemia em 11 de março de 2020 pela Organização Mundial de Saúde (OMS, 2020). Disseminou-se para 193 países e segundo dados da OMS, 80% dos pacientes infectados são assintomáticos, porém tem a capacidade de transmissão do vírus. No Brasil, a primeira morte registrada causada pelo vírus da COVID-19 (como foi denominada a doença) foi em 16 de março de 2020 na cidade de São Paulo – SP (BRASIL, 2020).

Devido a recente detecção da infecção pelo vírus causador da COVID-19

apresentam-se diversas dúvidas sobre evolução clínica da doença, mecanismos de ação, transmissão do vírus e tratamento dos sintomas (GORBALENYA, 2020). O SARS-CoV-2 tem a capacidade de infectar as células humanas devido a um complexo que se forma com a subunidade S1 presente na proteína S (Spike) na superfície do vírus com o sítio ativo presente na enzima de conversão de angiotensina 2 (ECA2) (LUAN, 2020). Esta enzima é expressa em células endoteliais de vários órgãos e tecidos do corpo humano, como: pulmão, fígado, coração, rins, testículos e intestinos (HOIFFMANN, 2020).

FIGURA 1) Ciclo viral SARS-CoV-2



ACE2, angiotensin-converting enzyme 2; gRNA, genomic RNA; Nsps, nonstructural proteins; ORF1, open reading frame 1; pp1a, polyprotein 1a; RTC, replication and transcription complex; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; sgRNA, subgenomic RNA; TMPRSS2, transmembrane protease serine 2.

Fonte: Jason P. Wong, and Blossom Damania Science 2021; 371:884-885

Os sintomas gerais da doença em humanos são muito parecidos com os de uma gripe comum, sendo diferenciados pela intensidade e agravamento rápido dependendo do organismo de cada paciente: febre, tosse, falta de ar ou dificuldade para respirar, fadiga, dor de cabeça, dor muscular, perda de olfato e/ou paladar, diarreia, congestão nasal e coriza (GORBALENYA, 2020). Os riscos da COVID -19 aumentam nos grupos de idosos, doentes crônicos, obesos e imunocomprometidos (BRASIL – MS, 2020). Além do quadro de síndrome respiratória complicações podem agravar o quadro dos pacientes como distúrbios cardíacos (arritmias), distúrbios na coagulação podendo causar quadros de hemorragia e trombos, além de inflamações renais e/ou hepáticas (MEHTA, 2020).

Em alguns mamíferos como primatas, felídeos, cães, e outros há presença expressiva da ECA2 em seus tecidos e a similaridade da enzima animal/humana torna possível a infecção por SARS-CoV-2 nesses grupos, com risco variável entre eles (LUAN, 2020). Quando há apresentação de sinais clínicos em casos de animais, os sintomas são similares aos dos humanos, como: diarreia, coriza, vômito, dispneia e febre (WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (C), 2020). Inúmeros seguimentos de pesquisa sobre o assunto precisam de desenvolvimento visando melhorar os artifícios usados para combater o crescimento progressivo da doença (SHI, 2020). Os animais selvagens de cativeiro tem vulnerabilidade á infecção devido ao convívio com tratadores ou profissionais de contato segundo estudos publicados nos Estados Unidos da América (EUA), Espanha e Holanda (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2021). Os primeiros casos de animais selvagens de cativeiro com amostras positivas para SARS-CoV-2 foram anunciados em abril de 2020 pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) sendo uma fêmea de tigre-malaio, um leão africano e um tigre siberiano (os últimos dois animais assintomáticos) do zoológico do Bronx na cidade de Nova York. (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE, 2020) (PROMED INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES (B), 2020). Suspeita-se que a fonte de infecção tenha sido um tratador assintomático, devido a similaridade encontrada no sequenciamento entre o SARS-CoV-2 detectado nos felídeos e no tratador (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2020). Já na cidade de Barcelona na Espanha, dois funcionários e quatro leões do zoológico da cidade testaram positivo para presença de SARS-CoV-2 em dezembro de 2020, os animais foram testados após apresentarem sintomas leves da doença.

Outros mamíferos carnívoros de cativeiro como os Visons já foram testados em fazendas na Holanda (PROMED INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES (B), 2020). Visons e funcionários sintomáticos testados destas fazendas apresentaram RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 e após sequenciamento as amostras apresentaram grande semelhança entre as sequências geradas em animais e funcionários das fazendas, indicando um possível transbordamento da infecção entre visons e humanos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019) (KIM, 2020).

Com o progresso da vacinação contra a COVID-19 em todo país, agora após um ano completo de campanha, vários trabalhos demonstram a eficácia dos imunizantes por meio da resposta humoral causada por cada uma das vacinas disponíveis no país com isso podemos observar uma diminuição da prevalência de casos graves (TANG, 2020) (UFMG, 2020). Atualmente as vacinas liberadas para uso pela ANVISA (Agencia Nacional de Vigilância Sanitária) para uso no Brasil são: Comirnaty - Pfizer/Wyeth; Coronavac - Butantan; Janssen Vaccine - Janssen-Cilag e Oxford/Covishield - Fiocruz e Astrazeneca (MINISTERIO DA SAÚDE, 2022).

Além das vacinas em humanos, uma vacina da farmacêutica Zoetis aprovada para uso experimental pelo Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA) já está sendo aplicada em animais de Zoológicos no país, o imunizante apesar de ter o mesmo antígeno usado nas vacinas humanas contém adjuvantes diferentes (ZOETS, 2022). No início de 2022 houve a aprovação de importação pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no Brasil também para uso experimental em animais contra o SARS-CoV-2 (UFPR, 2022) (UNA-SUS, 2021).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Detectar a presença de SARS-CoV-2 em felídeos e funcionários de contato e anticorpos anti-SARS-CoV-2 específicos nos funcionários participantes do Zoológico Municipal de Curitiba.

3.2 Objetivos específicos

a) Avaliar a presença de anticorpos anti-SARS-CoV-2 em amostras de soro de funcionários do Zoológico Municipal de Curitiba, Curitiba, Paraná e associar a resposta humoral ao tipo de vacina usada (divisão por grupos);

b) Analisar os resultados da detecção da presença ou não de SARS-CoV-2 via RT-PCR em felídeos e comparar com outros resultados já publicados em outros países;

c) Fornecer os resultados para a Secretaria Municipal de Saúde e comunidade científica por meio de relatórios e artigos publicados.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Recrutamento dos participantes da pesquisa

A pretensão da pesquisa foi de realizar um estudo epidemiológico para atender os objetivos elencados anteriormente. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de ética em Pesquisa SCS/UFPR – Via Plataforma Brasil – sob CAAE: 43918821.2.0000.0102 e no Comitê de ética no uso de animais sob protocolo 063/21.

- a) Os participantes da pesquisa foram tratadores, médicos veterinários, biólogos e zootecnistas trabalhadores do Zoológico Municipal de Curitiba. Os trabalhadores foram convidados à participar do projeto, pessoalmente em local de trabalho, mediante explicação e apresentação do TCLE (termo de consentimento livre e esclarecido), considerando a Resolução 466/12, foram expostas aos interessados todas as informações necessárias para esclarecimento da pesquisa a qual se propruseram a participar.
- b) Todos os trabalhadores que aceitaram participar assinaram o TCLE – termo de compromisso livre e esclarecido.
- c) O recrutamento dos participantes seguiu todas as normas de segurança estabelecidas pelo Município vigentes no momento da abordagem, para os pesquisadores e participantes, considerando o atual cenário da pandemia.

4.2 Aplicação de questionários epidemiológicos

Após o recrutamento foram realizados questionários epidemiológicos para correlacionar tratadores, animais e seus recintos, além da coleta de dados pessoais e informações sobre a presença de alguns sintomas relacionados a doença e se algum teste de triagem ou diagnóstico já havia sido realizado pelo participante (em anexo).

4.3 Coleta saliva e de sangue total de seres humanos funcionários do Zoológico Municipal de Curitiba

Foram coletadas dos trabalhadores amostras de saliva (para análise padrão ouro em detecção de material genético viral RT-PCR) e amostra de sangue total (por punção venosa) para sorologia, nas datas 18 e 20 de janeiro de 2021 e 05 e 06 de dezembro de 2021, por profissional farmacêutica, a coleta foi realizada no Zoológico Municipal de Curitiba, em sala arejada preparada para coleta com os equipamentos de proteção individual (máscara, luvas, toucas, avental descartável e face shield) necessários.

Após a coleta das amostras de saliva e sangue total foram encaminhadas, devidamente armazenadas e refrigeradas, ao Setor de Ciências Veterinárias da UFPR para análise no Laboratório de Zoonoses e Epidemiologia Molecular. As amostras foram descartadas após o término do estudo.

4.4 Coleta de swab orofaríngeo e nasofaríngeo de felídeos do Zoológico Municipal de Curitiba

Swabs de orofarínge e nasofarínge foram coletados dos felídeos do Zoológico Municipal de Curitiba com auxílio dos tratadores, veterinários e zootecnistas do Zoo, sem necessidade de sedação de nenhum dos animais. Com os animais pequenos a coleta foi realizada mediante contenção física pelos mesmos profissionais capacitados.

4.5 Detecção de SARS-CoV-2 por RT-PCR

As amostras de salivas de humanos e as amostras de swabs de orofaringe e nasofaringe dos felídeos foram analisadas usando a metodologia RT-PCR (transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real). Utilizando o kit comercial validado (Kit Biomol One Step / COVID-19, IBMP, Curitiba, Brasil), com alvo nos genes ORF-1a e gene N, conservado em diferentes regiões genômicas do SARS-CoV-2.

4.6 Análises sorológicas

As análises sorológicas foram realizadas segundo metodologia de Elisa de esferas magnéticas (HUERGO, 2021) modificada pelo Laboratório de microbiologia

molecular da UFPR, Setor Litoral, Matinhos – Paraná. Foram avaliadas em janeiro/2021 análises de 162 amostras humanas para verificar a presença de anticorpos de classe IgG reativos às proteínas virais do nucleocapsídeo (proteína N). Em Dezembro/2021 foram avaliadas 152 amostras humanas verificando a presença de anticorpos de classe IgG reativos as proteínas virais nucleocapsídeo (proteína N) e das espículas de superfície viral, chamadas Spike (proteína S), somente 32 funcionários aderiram as duas testagens de 2021. As amostras de soro foram analisadas para verificar a presença de anticorpos IgG reativos às proteínas virais nucleocapsídeo (N) e Spike (S) por imunoenensaio ELISA de esferas magnéticas. O imunoenensaio do tipo ELISA por esferas magnéticas foi realizado utilizando uma placa de 96 poços com fundo plano (placa Cralplast). Quantidades de esferas carregadas com antígeno foram ressuspendidas em solução salina tamponada com tris e polissorbato 20 (TBST) contendo 1% de leite e 0,1 ml da mistura foram distribuídos em cada poço. Quatro microlitros de soro foram diluídos em 0,2 ml de TBST diretamente para os poços de uma segunda placa de 96 poços. As esferas magnéticas foram transferidas para a placa de amostra e incubadas com a amostra de soro durante 2 min com suave agitação. As esferas foram capturadas e carregadas em duas etapas sequenciais de lavagem durante 30 segundos em 1x TBST, incubadas durante 2 min com 0,15 ml de IgG-PE anti-humano de cabra (Thermo Scientific) diluído 1:250 em 1x TBST, seguidas de duas etapas consecutivas de lavagem com 0,2 ml 1x TBST. As esferas foram transferidas e ressuspendidas numa placa final com 0,15 ml de 1x TBST. A intensidade de fluorescência foi capturada utilizando um leitor de placas TECAN M Nano (TECAN) operando na leitura fluorescente superior. Excitação 545 nm (largura de banda 9 nm e 25 flashes) e emissão 578 nm (largura de banda 20 nm, tempo de integração 20 μ s e posição Z a 20.000 μ m). Os sinais de corte que foram usados para discriminar amostras IgG positivas das negativas foram estabelecidos em $\geq 13\%$ ou 11% usando proteína N ou proteína S, respectivamente.

4.7 Metodologia de Análise dos dados

O efeito do tempo de aplicação da vacina (grupo B e grupo C) e do tipo de vacina (Astra, Pfizer e Coronavac), foi avaliado utilizando Modelo Linear Generalizado (GLM), pelo pacote "lme4" (Bates et al., 2015), função 'glm'. Para

avaliar todas as combinações de vacinas e interações (grupoXvacina) foi realizado um teste pareado à posteriori pelo pacote "multcomp", função 'glht' (Hothorn et al., 2008). Para verificar a relação entre a idade e a resposta imunológica para as proteínas N e S, foi utilizado Modelo Linear Generalizado. Devido à natureza dos dados de resposta imunológica (em porcentagem), foi assumida distribuição de erro Binomial ou Quasibinomial no caso de superdispersão. Todos os modelos foram conduzidos no programa computacional R (R Core Team, 2022). O teste de comparação entre as coletas de pré-imunização e pós-imunização foi realizado via Teste T de Student somente para o grupo de participantes que aderiram as duas coletas de 2021.

5. PRODUÇÃO CIENTÍFICA

5.1 Molecular and serological testing for SARS-CoV-2 in wild felids and workers at the Curitiba Zoo, southern Brazil

Title: Molecular and serological testing for SARS-CoV-2 in wild felids and workers at the Curitiba Zoo, southern Brazil

Running Head: SARS-CoV-2 in wild felids and zoo workers

Brenda Winona¹, Louise Bach Kmetiuk¹, Altina Bruna Barbosa¹, Fernando Rodrigo Doline¹, Emanuel Maltempi de Souza², Edvaldo da Silva Trindade³, Valter Baura², Marcelo Bonat⁴, Vivien Midori Morikawa⁴, Edson Ferraz Evaristo de Paula⁴, Ivan Roque de Barros Filho⁵, Christina Pettan-Brewer⁶, Helio Autran de Moraes⁷, David Soeiro Barbosa⁸, Ana Marcia de Sá Guimarães⁹, Andrea Pires dos Santos¹⁰, Wagner Antonio Chiba de Castro¹¹, Luciano F. Huergo¹², Alexander Welker Biondo^{1*}

1-Graduate College of Cellular and Molecular Biology, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, Paraná, Brazil. brendawinona@hotmail.com; louisebachk@gmail.com; altinabruna@gmail.com; fernando.doline@ufpr.br

2- Department of Biochemistry and Molecular Biology, UFPR, Curitiba, Paraná, Brazil. souzaem@ufpr.br, baura@ufpr.br

3- Department of Cellular Biology, UFPR, Curitiba, Paraná, Brazil. estrindade@ufpr.br

4- Curitiba City Zoo, Secretary of Environment, Curitiba, PR, Brazil. mbonat@curitiba.pr.gov.br; vmorikawa@smma.curitiba.pr.gov.br; edspaula@curitiba.pr.gov.br

5- Department of Veterinary Medicine, Federal University of Paraná State, Curitiba, Paraná, Brazil. ivanbarf@ufpr.br

6- Department of Comparative Medicine, School of Medicine, University of Washington, Seattle, Washington, USA. kcpb@uw.edu

7- Department of Clinical Sciences, Oregon State University, Portland, Oregon, USA.

heliodemorais@gmail.com

8- Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. davidsoeiro@gmail.com

9- Laboratory of Applied Research in Mycobacteria, Department of Microbiology, Institute of Biomedical Sciences, University of São Paulo, São Paulo, Brazil. anamarca@usp.br

10- Department of Comparative Pathobiology, College of Veterinary Medicine, Purdue University, West Lafayette, Indiana, USA. santos1@purdue.edu

11- Department of Life and Nature Sciences, Federal University for Latin American Integration, Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. wagner.castro@unila.edu.br

12 – Federal University of Paraná (UFPR), Seashore Campus, Matinhos, PR, Brazil. luciano.huergo@gmail.com

Corresponding author: A.W. Biondo, Rua dos Funcionários 1540, Curitiba, PR, 80035-050, Brasil.

Phone number: (+55) 41 3350-5623. Email address: abiondo@ufpr.br

Abstract

A total of 12 wild felids from the Curitiba City Zoo were sampled and tested by RT-qPCR for SARS-CoV-2 on June, 2020, and on January, 2021. Curitiba City, southern Brazil, has been ranked as the eighth-largest city in Brazil, with over 1.9 million inhabitants. Animals included four jaguars, three southern tiger cats, one ocelot, one margay, one native cougar, one tiger, and one lion. Additionally, 39 Zoo employees, including animal keepers, had nasal and oropharyngeal swabs taken and molecularly tested. The employees were also serologically tested by IgM/IgG rapid assays. Animal samples tested negative in duplicate by RT-qPCR for SARS-CoV-2. Only one maintenance worker tested positive (CT=38) and was immediately placed in self-isolation. No serological sample was positive in the 38 remaining workers. In summary, despite at a relatively early stage of city pandemics, the study herein has found no molecular evidence of wild felid infection in a major Brazilian city zoo.

Keywords: COVID-19, coronavirus, transmission, Zookeepers

Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), responsible for the Coronavirus disease 2019 (COVID-19), is an emergent pathogen with suspect zoonotic origin and first reported in late 2019 (Zhu et al., 2019). Natural SARS-CoV-2 occurrence in cats, dogs, and minks have been associated with positive owners and farmworkers (Hossain et al., 2020).

During the SARS-CoV-2 epidemic in the United States, an adult female Malayan tiger tested positive by RT-qPCR at the Wildlife Conservation Society's Bronx Zoo, New York City, possibly infected by an asymptomatic zookeeper (USDA, 2020). Following this first detection, two Malayan tigers, three Siberian tigers, and three African lions have shown respiratory signs and were also molecularly tested, with one positive lion (USDA, 2020). Later, stool samples from all these animals and one asymptomatic Siberian tiger tested positive for SARS-CoV-2 by RT-qPCR (USDA, 2020). SARS-CoV-2 in a Malayan tiger has been identified and characterized (Wang et al., 2020). All seven symptomatic wild felids have improved since and become clinically normal (USDA 2020). In addition, SARS-CoV-2 genetic characterization has shown distinct viral sources for tigers and lions, but with similarities between tiger and zookeeper viruses, suggesting human-animal transmission. The viral source for the infection in lions was not identified (McAloose et al., 2020).

Despite the risk of both animal and human transmission and disease, no other survey has been conducted to date in epidemic areas, particularly in Brazil, the current epicenter of the novel coronavirus in Latin America. Accordingly, the aim of the present study was to investigate the occurrence of SARS-CoV-2 in zoo animals and zookeepers, and anti-SARS-CoV-2 antibodies in zoo workers of Curitiba City Zoo, southern Brazil.

Materials and Methods

The study was conducted in Curitiba City Zoo, located in the Southern State of Paraná- Brazil, which is amongst the Brazilian zoos with approximately 2,300 animals of 300 species, distributed across 530 square meters (Javorouski et al., 2012). Nasal and mouth swabs were obtained from a total of wild felids at the Curitiba City Zoo, southern Brazil firstly on June 23rd, 2020, and tested by RT-qPCR with a commercially available kit (KitBiomol OneStep/COVID-19, IBMP, Curitiba, Brazil) that targets ORF-1a and N gene, different conserved genomic regions of SARS-CoV-2. At the same time,

employees were serologically tested by IgM/IgG rapid assays (One Step Sars-CoV-2 antibody test, Wondfo Biotech Co., China) within the following week. In January and december 2021, employees were serologically tested again by magnetic bead immunoassay (Huergo et al.,2021). In addition, nasal and mouth swabs were obtained from twelve animals.

This study has been approved by the Ethics Committee of Animal Use at the Federal University of Paraná (number 63/2021), by National Human Ethics Research Committee (number 43918821.2.0000.0102), and officially included as part of the Curitiba City Secretary of Health and Environment activities.

The effect of the time of application of the vaccine and the type of vaccine was evaluated using the Generalized Linear Model (GLM), by the package "lme4", function 'glm'. To evaluate all vaccine combinations and interactions, an a posteriori paired test was performed using the package "multcomp", function 'glht'. Due to the nature of the immune response data, Binomial or Quasibinomial error distribution was assumed in the case of superdispersion. All models were conducted in the computer program R.

Results

Animals of June 2020 sampling has included four jaguars (*Panthera onca*), three southern tiger cats (*Leopardus guttulus*), one ocelot (*Leopardus pardalis*), one margay (*Leopardus wiedii*), one native cougar (*Puma concolor*), one tiger (*Panthera tigris*), and one lion (*Panthera leo*). The tiger and lion were successfully sampled by regular swab through the wire mesh fence. All other small wild felids were sampled following physical restrain with a landing net. Nasal and oropharyngeal swabs from the 39 zoo employees, including animal keepers, kitchen and maintenance workers, drivers, and administration personal, were also taken and tested. Animals and zoo workers were considered healthy at the time of samplings, with the exception of an administration worker who referred to headache and mild coughing. Animal samples were tested in duplicate, and all results were negative by RT-qPCR for SARS-CoV-2. Only one maintenance worker tested positive (CT=38) and was immediately sent home for self-isolation and remote monitoring (before serological testing), as currently mandatory by

the city secretary of health. No serological sample was positive either for IgM or IgG in the 38 remaining workers in June 2020. The lion and tiger were retested on July 24th, 2020, and both swab samples tested negative again by RT-qPCR for SARS-CoV-2. Additional swab samples were also obtained on that day from another lion (*Panthera leo*), a hippopotamus (*Hippopotamus amphibious*), two chimpanzees (*Pan troglodytes*), and a baboon (*Papio hamdryas*), all of which also tested negative. The first tested lion was 18-year old, presented with chronic weight loss and lethargy, and died on August 3rd, 2020. Swab samples collected during necropsy from the oropharynx, glottis, and inside distal rectum were all negative by RT-qPCR for SARS-CoV-2.

A total of 9/162 (5,5%) employees were seropositive and none were molecularly positive to SARS-CoV-2 in January 2021 on that date none of the employees had been vaccinated against SARS-CoV-2. Among the participants who joined the January and December 2021 collections, after the complete immunization of all employees, it is possible to observe that the signal response (%) of detection of IgG anti-SARS-CoV-2 antibodies is greater in relation to the same group before vaccination. Employees immunized with the Coronavac vaccine had a lower immune response when compared to those immunized with the Pfizer and AstraZeneca vaccines at the same time interval. There was no statistically significant difference between the immune response of patients immunized with Pfizer and AstraZeneca.

Discussion

To the author's knowledge, this is the first SARS-CoV-2 testing in native Brazilian wild felids. Although the Curitiba Zoo receives an average of 650,000 visitors per year, it has been closed for visitors since March 2020. The city of Curitiba, capital of Paraná state, is currently the eighth-largest city in Brazil with over 1.9 million inhabitants and with 48,212 officially confirmed human cases and 1,397 deaths due to COVID-19 by October 15th, 2020. Zoo collaborative efforts, combining conservation medicine, public health, and veterinary sciences, should be focused on a multisectoral and transdisciplinary "One Health" approach for effective detection, response, and prevention of human and animal infections.

Under experimental conditions, domestic felids that have been intranasally inoculated with

high doses of SARS-CoV-2 have shown no clinical signs but developed neutralizing antibodies and eliminated viral RNA in the feces (Shi et al., 2020). In another study, experimentally infected cats have transmitted the disease by air to susceptible cats, after cohoused, with no clinical signs and IgG antibody titers ranging from 1:5,120 to 1:20,480 in all animals (Halfmann et al., 2020). Similarly, to humans, an experimental study with domestic felids has shown that SARS-CoV-2 penetrates the cell by the angiotensin-converting enzyme 2, ACE-2 (Shi et al., 2020). Although human–felid–human transmission remains unclear, cats may be a silent intermediate host of SARS-CoV-2, highlighting the public health importance as a zoonotic disease (Halfmann et al., 2020).

Conclusions

In summary, despite at a relatively early stage of city pandemics on the dates of animal collections the study herein has found no molecular evidence of SARS-CoV-2 infection on wild felids at the city zoo, located in the eighth-most populated city in Brazil.

References

- Halfmann PJ, Hatta M, Chiba S, Maemura T, et al. Transmission of SARS-CoV-2 in Domestic Cats. *N Engl J Med*; 2020. doi: 10.1056/NEJMc2013400
- Hossain MG, Akter S, Saha S. SARS-CoV-2 host diversity: An update of natural infections and experimental evidences. *J Microbiol Immunol Infect*; 2020. doi:10.1016/j.jmii.2020.06.006
- Javorouski ML, Biscaia SA. *Zoológico Municipal de Curitiba 30 anos*, Curitiba; 2012.
- Shi J, Wen Z, Zhong G, Yang H, Wang C, Huang B, Liu R, He X, Shuai L, Sun Z, Zhao Y, Liu P, Liang L, Cui P, Wang J, et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS–coronavirus 2. *Science* 2020;368(6494):1016-1020.
- USDA (United States Department of Agriculture). Confirmed cases of SARS-CoV-2 in Animals in the United States [Internet]. 2020 [cited 2020 Apr 24]. Available from: https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/SA_One_Health/sars-cov-2-animals-us (accessed Oct 7 2020).

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China. *N Engl J Med* 2020;382(8):727-733.

Wang L, Mitchell PK, Calle PP, Bartlett SL, et al. Complete genome sequence of SARSCoV-2 in a tiger from a U.S. Zoological Collection. *Microbiol Resour Announc* 2020;9(22):e00468-20. doi: 10.1128/MRA.00468-20.

Huergo LF, Selim KA, Conzentino MS, Gerhardt ECM, Santos ARS, Wagner B, et al. Magnetic Bead-Based Immunoassay Allows Rapid, Inexpensive, and Quantitative Detection of Human SARS-CoV-2 Antibodies. Vol. 6, *ACS Sensors*. 2021. p. 703–8.

Bates, D., Maechler, M., Bolker, B., Walker, S., Christensen, R.H.B., Singmann, H., 2015. *lme4: linear mixed-effects models using Eigen and S4*, 2014. R package version 1 [online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: <https://cran.r-project.org/web/packages/lme4/index.html> (accessed Mar 22 2022)

Bolker, B.; Brooks, M.E.; Clark, C.J.; Geange, S.W.; Poulsen, J.R.; Stevens, M.H.H. & Wjite, J.S.S. (2009) Generalized linear mixed models: a practical guide for ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution*, 24, 127– 135.

Hothorn, T., Bretz, F. and Westfall, P., 2008. Simultaneous inference in general parametric models. *Biometrical Journal. Biometrische Zeitschrift*, vol. 50, no. 3, pp. 346-363. <http://dx.doi.org/10.1002/bimj.200810425>. PMID:18481363.

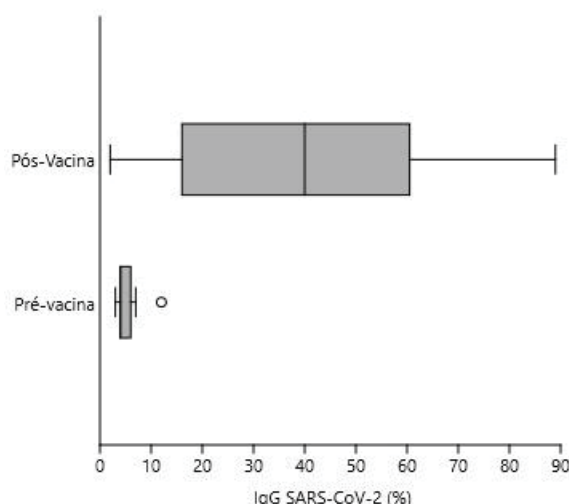
R Core Team, 2022. R: a language and environment for statistical computing[online]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing. Available from: www.r-project.org (accessed Mar 15 2022)

6. DISCUSSÃO

6.1 Sorologia para IgG anti-SARS-CoV-2 em humanos

Com o recrutamento de participantes para a pesquisa o número total de testados entre primeira e segunda coleta foi de 222 pessoas (entre coletas de swabs de nasofaringe e orofaringe, saliva e sangue total). Dos participantes da primeira coleta, aproximadamente 15% já apresentavam sinal de IgG SARS-CoV-2 antes da vacinação indicando que já haviam tido contato prévio com o vírus. Na análise do gráfico 1 podemos observar que é nítida a produção dos anticorpos IgG para SARS-CoV-2 após a vacinação independente do imunizante utilizado. Para a comparação dos sinais de IgG SARS-CoV-2 pré e pós vacinação realizamos um teste T de Student com resultado de p-valor = 0,0001 indicando diferença significativa entre os sinais de vacinados e não vacinados.

Gráfico 1 – Sinal em % de IgG anti-SARS-CoV-2 nos participantes

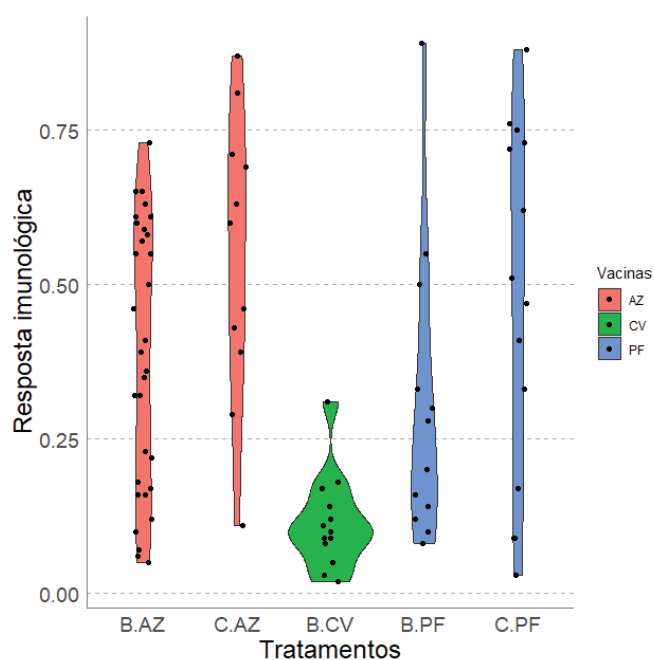


Os participantes entre 19 e 67 anos foram vacinados com as três opções de vacina disponíveis pelo Programa Nacional de Imunização (PNI) no país conforme a idade, sendo assim possíveis separações por grupos de imunizantes, idade e comparações entre a resposta humoral. Os imunizantes aplicados nos participantes são de três fabricantes diferentes: CoronaVac – Fabricante Sinovac (tecnologia de vírus inativado); Vacina de Oxford – Fabricante AstraZeneca (tecnologia de vetor viral) e Vacina Pfizer/BioNTech (tecnologia de RNA mensageiro). Deste modo os participantes foram separados em grupos pela data da segunda dose da vacina de cada um dos três imunizantes e comparados em relação ao sinal (%) de IgG anti SARS-CoV-2: Grupo A – vacinados com a 2ª dose entre fevereiro, março, abril e

maio de 2021; Grupo B – Vacinados com a 2ª dose entre junho, julho, agosto e setembro de 2021; Grupo C – vacinados com a 2ª dose entre outubro, novembro e dezembro de 2021. Os grupos A dos três imunizantes e o Grupo C do imunizante Coronavac não apresentaram participantes suficientes para comparação estatística significativa.

Não houve diferenças estatística significativa entre a resposta imunológica de pacientes imunizados com Pfizer e AstraZeneca. Nos demais resultados de comparação podemos perceber que os imunizantes da AstraZeneca e Pfizer produzem uma maior taxa de imunizados com % sinal acima do ponto de corte do teste (11% e 13%) em relação aos vacinados com a vacina da farmacêutica Sinovac (gráfico 2). Foram considerados os resultados dos comparativos entre resposta humoral, ou seja, a produção do IgG SARS-CoV-2, e a progressão da idade dos pacientes para cada um dos imunizantes recebidos. Em relação dos participantes que aderiram as duas coletas de sangue total apenas 5 não demonstraram sinais de IgG acima do ponto de corte do teste sorológico, entretanto estes resultados não indicam que os indivíduos não estão protegidos. Com a variação da resposta de cada organismo a soroconversão pode ocorrer mais rapidamente decaindo os níveis de IgG e aumentando a produção de outras frentes de combate ao vírus no sistema imunológico, podendo também indicar que esses níveis de IgG estariam menores pois a imunização havia sido realizada a dois-três meses antes do teste sorológico.

Gráfico 2 - Resposta imunológica (em %*10-1) em função dos grupos de aplicação das vacinas.



6.2 RT-PCR realizados nas amostras dos participantes

As amostras de swabs de orofaringe/nasofaringe e saliva totalizaram 102 participantes, dos quais apenas um teve resultado positivo na PCR, ou seja, teve carga viral detectada na amostra coletada. Este participante foi imediatamente contactado e orientado a ficar em isolamento domiciliar, a administração do Zoológico e os órgãos de saúde pública responsáveis também foram notificados. O participante não teve sintomas fortes e realizou o isolamento corretamente. Essa detecção foi juntamente com as primeiras coletas de sangue total, ou seja, nenhum participante estava vacinado contra COVID-19.

6.3 Animais testados

Dos animais foram coletados apenas swabs de nasofaringe e orofaringe e todos os resultados de RT-PCR foram negativos para presença de SARS-CoV-2.

TABELA 1 – Animais Testados

Animal	Linhagem	Idade (anos)	Peso (kg)			Resultado
				Macho	Fêmea	
Onça-parda	<i>Puma concolor</i>	5 - 8	80 kg	3		Negativo
Onça-pintada	<i>Panthera onca</i>	8	80-90kg	1	3	Negativo
Tigre	<i>Panthera tigris</i>	8	250 kg	1		Negativo
Leão	<i>Panthera leo</i>	6 e 9	180 kg	3		Negativo
Jaguaririca	<i>Leopardus pardalis</i>	3	4 kg		1	Negativo
Gato-do-mato	<i>Leopardus guttulus</i>	4	2-4 kg	1	2	Negativo
				Total = 15		

7. CONSIDERAÇÃO FINAIS

Como os animais de Zoológico e os tratadores/profissionais de cuidado são considerados como uma aglomeração involuntária é de elevada importância os testes e acompanhamento destes animais e profissionais devido ao futuro potencial das infecções por SARS-CoV-2 tornarem-se endêmicas com o passar do tempo e da vacinação dos humanos. Nossos resultados demonstram que cuidados como o fechamento do Zoológico Municipal de Curitiba para visitação e orientação contínua a todos os funcionários podem evitar ou diminuir a transmissão do vírus nessa comunidade animais/tratadores/funcionários.

Não foram encontrados indícios de que indivíduos com maior idade possuem menores níveis de produção de anticorpos neste grupo testado. As limitações práticas da pesquisa, como a não repetição da coleta para análise RT-PCR dos felídeos e a falta de coleta de sorologia deles, limitou os resultados da pesquisa nos animais. Dúvidas se animais podem servir de reservatório do vírus SARS-CoV-2 ainda permeiam as respostas de outros estudos parecidos com este e os resultados positivos de animais selvagens nativos e exóticos de cativeiro em outros países nos fazem questionar a metodologia de coleta usada neste estudo e a época de coleta. Um rastreamento com frequência desses animais poderá nos trazer maiores esclarecimentos tanto na detecção da doença em fase ativa como com a sorologia nos trazer informações sobre o contato dos animais com o vírus. No Brasil, até o momento este é o primeiro estudo voltado para a presença de SARS-CoV-2 em felídeos de cativeiro, acreditamos que os resultados são otimistas em relação a não contaminação desta família de animais. O acompanhamento de animais de Zoológico é de importância elevada pelo alto risco de contaminação pelos visitantes e devido a transição do estado de pandemia para uma endemia num futuro próximo.

Pensando na prevenção de possíveis infecções mais fortes e visando a proteção dos animais selvagens de cativeiro, conseguimos junto ao Ministério da Pecuária e Agricultura liberação para uso da vacina da farmacêutica Zoets, que dispõe da primeira vacina exclusiva para animais contra o SARS-CoV-2. Sendo assim o Zoológico Municipal de Curitiba é o primeiro zoo do país a vacinar as espécies mais susceptíveis como os felídeos deste estudo, mas também como mustelídeos e primatas.

8. REFERÊNCIAS

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vacinas - Covid-19**. Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/ptbr/assuntos/paf/coronavirus/vacinas#:~:text=Atualmente%20existem%20quatro%20formas%20para,ou%20pelo%20cons%C3%B3rcio%20Covax%20Facility>>. Acesso em março de 2022.

MAURIN, M.; FENOLLAR, F.; MEDIANNIKOV, O.; DAVOUST, B.; DEVAUX, C.; RAOULT, D. Current Status of Putative Animal Sources of SARS-CoV-2 Infection in Humans: Wildlife, Domestic Animals and Pets. **Microorganisms** 2021, 9, 868. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9040868>

ZOETS – PRESS RELEASES - **Zoetis Donates COVID-19 Vaccines to Help Support the Health of Zoo Animals**. Disponível em: <<https://news.zoetis.com/press-releases/press-release-details/2021/Zoetis-Donates-COVID-19-Vaccines-to-Help-Support-the-Health-of-Zoo-Animals/default.aspx>>. Acesso em janeiro de 2022

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19**. Disponível em: <<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-atthe-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>>. Acesso em maio de 2020.

UFPR - UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ – Ciência e tecnologia - **Animais selvagens do Zoológico de Curitiba devem ser os primeiros vacinados contra Covid-19 no Brasil**. Disponível em: <<https://www.ufpr.br/portalufpr/noticias/animais-selvagens-do-zoologico-de-curitiba-devem-ser-os-primeiros-vacinados-contracovid-19-no-brasil/#:~:text=Vacina%20pr%C3%B3pria%20para%20animais&text=O%20imunizante%20contra%20a%20Covid,o%20adjuvante%20que%20%C3%A9%20usado>>. Acesso em janeiro de 2022.

UNA–SUS - UNIVERSIDADE ABERTA DO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE. **Vacina candidata contra a COVID-19 para uso veterinário ganha espaço em zoológicos e santuários animais nos Estados Unidos**. Disponível em: <<https://www.unasus.gov.br/especial/covid19/markdown/466>>. Acesso em dezembro de 2021.

PROMED - INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES (A).

Coronavirus Disease 2019 up-date (138): India, wild tiger, fatal. 2020. Disponível em: <<https://promedmail.org/promed-post/?id=20200428.7275765>> Acesso em junho de 2020.

PROMED - INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES (B).

Coronavirus Disease 2019 update (169): Netherlands (NB) animal, farmed mink, spread, rabbit susp (09-05-2020). 2020. Disponível em: <<https://promedmail.org/promed-post/?id=7316646>>. Acesso em maio 2020.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH. **SARS-CoV-2 positive test result in a tiger in the USA (06/04/2020).** Disponível em: <https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?page_refer=MapFullEventReport&reportid=33885>. Acesso em junho de 2021.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Confirmed cases of SARS-CoV-2 in Animals in the United States.** Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/SA_One_Health/sars-cov-2-animals-us>. Acesso em maio de 2021.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **Animal**

Coronaviruses: Lessons for Sars. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92442/>>. Acesso em julho de 2021.

AMERICAN VETERINARY MEDICAL ASSOCIATION. SARS-CoV-2 in

animals. AVMA, 2020. Disponível em: <<https://www.avma.org/resources-tools/animal-health-and-welfare/covid-19/sars-cov-2-animals-including-pets>>. Acesso em setembro de 2020.

BRASIL. **Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012.** Dispõe sobre diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 13 jun. 2013. Disponível em: <<http://bit.ly/1mTMIS3>>. Acesso em janeiro de 2021.

GAO, T.; PAN, X.; PAN, C. The fate of house cats during the COVID-19 pandemic. **Microbes and Infection**, v.22, n. 4-5, p. 157, 2020. doi: 10.1016/j.micinf.2020.04.006.

SHI, J. et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. **Science**, v.368, n. 6494, p. 1016-1020, 2020. doi: 10.1126/science.abb7015.

KIM, Y. I. et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. **Cell Host & Microbe**, v. 27, n. 5, p. 704-709, 2020. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023.

YIN, Y.; WUNDERINK, R. MERS, SARS, and other coronaviruses as causes of pneumonia. **Respirology – Journal of the Asian Pacific Society of Respirology**, v. 23, n. 2, p. 130-137, 2018. doi: 10.1111/resp.13196.

AZHAR, E. L.; EL-KAFRAWY, S. A; FARRAJ, S. A.; HASSAN, A. M.; AL-SAEED, M. S.; HASHEM, A. M.; MADANI, T.A. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. **The New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 26, p. 2499-2505, 2014.

TAY, M. Z.; POH, C. M.; RENIA, L.; MACARY, P. A.; NG, L. F. P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation, and interventions. **Nature Reviews. Immunology**, v. 20, n. 6, p. 363-374, 2020. doi: 10.1038/s41577-020-0311- 8.

ZHOU, P. et al L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2012-7.

ZHANG, T.; WU, Q.; ZHANG, Z. Probable pangolin origin of SARS-CoV-2 associated with the COVID-19 outbreak. **Current Biology**, v. 30, n. 8, p. 1346-1351, 2020. doi: 10.1016/j.cub.2020.03.022.

LIU, P.; CHEN, W.; CHEN, J. P. Viral metagenomics revealed sendai virus and coronavirus infection of malayan pangolins (*Manis javanica*). **Viruses**, v. 11, n. 11, p. 979, 2019. doi: 10.3390/v11110979.

LUAN, J; LU, Y; JIN, X; ZHANG, L. Spike protein recognition of mammalian ACE2 predicts the host range and an optimized ACE2 for SARS-CoV-2 infection.

Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 526, n. 1, p. 165-169, 2020. doi: 10.1016/j. bbrc.2020.03.047.

LI, F.; LI, W.; FARZAN, M.; HARRISON, S.C. Structure of SARS coronavirus spike receptor- binding domain complexed with receptor. **Science**, v. 309, n. 5742, p. 1864-1868, 2005. doi: 10.1126/science.1116480.

HOFFMANN, M. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **Cell**, v.181, n.2, p.271-280, 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.

HUERGO, L. F; SELIM, K.A; CONZENTINO, M.S; GERHARDT, E.C.M; SANTOS, A. R. S; WAGNER, B. et al. Magnetic Bead-Based Immunoassay Allows Rapid, Inexpensive, and Quantitative Detection of Human SARS-CoV-2 Antibodies. Vol. 6, **ACS Sensors**. 2021. p. 703–8.

GORBALENYA, A. E. et al. The species severe acute respiratory syndrome - related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS- CoV-2. **Nature Microbiology**, v. 5, n. 4, p. 536- 544, 2020. doi:10.1038/s41564-020-0695-z.

MEHTA, P. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1033-1034, 2020. doi:10.1016/S0140-6736(20)30628-0.

MOTLEY, M. P.; BENNETT-GUERRERO, E.; FRIES, B. C.; SPITZER, E. D. Review of viral testing (polymerase chain reaction) and antibody/ serology testing for severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 for the intensivist. **Critical Care Explorations**, v.2, n.6, p.e012020. doi: 10.1097/CCE.000000000000154.

LAMERS, M. et al. SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. **Science**, v. 369, n. 6499, p. 50-54, 2020. doi: 10.1126/science.abc1669.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Coronavírus, Covid-19. Sobre a doença**. Ministério da Saúde, 2020. Disponível em: <<https://coronavirus.saude.gov.br/sobre-a-doenca>>. Acesso em 23 de julho de 2020.

ORAN, D. P.; TOPOL, E. J. Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review. **Annals of Internal Medicine**, v. 173, n. 5, p. 362-367, 2020. doi:10.7326/M20-3012.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (A). Information provided by the National Veterinary Services of Belgium (28/03/20). **OIE, 2020**. Disponível em: <<https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/covid-19/attach/pdf/summary-17.pdf>>. Acesso em: 08 de agosto de 2020.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. **Confirmation of COVID-19 in two pet cats in New York**. USDA, 2020. Disponível em: <https://www.aphis.usda.gov/aphis/newsroom/news/sa_by_date/sa-2020/sars-cov-2-animals>. Acesso em 11 de julho 2020.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Confirmation of COVID-19 in two pet cats in New York**. CDC, 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/media/releases/2020/0422-Covid-19-cats-NYC.html>>. Acesso em 11 de julho 2020.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (B). **Follow-up report no. 2. (22/04/2020)**. OIE, 2020. Disponível em: <https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=34086>. Acesso em 11 de julho 2020.

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA. **Detectan el primer gato infectado con el nuevo coronavirus en el estado español**. UAB, 08/05/2020. Disponível em: <<https://cutt.ly/rgcBm2B>>. Acesso em 11 de julho 2020.

PROMED - INTERNATIONAL SOCIETY FOR INFECTIOUS DISEASES. **COVID-19 update (177): Netherlands (NB) animal, farmed mink, Spain (CT) cat susp.**

ProMED, 12/05/2020. Disponível em:

<<https://promedmail.org/promedpost/?id=7328587>>. Acesso em 11 de julho 2020.

DELAI, R. R.; KMETIUK, L. B.; SANTOS, P.; BIONDO, A. W.; MORAIS, H. A. O novo coronavírus e os animais de companhia. **Revista Clínica Veterinária**, ano XXV, n. 146, p. 20-32, 2020. ISSN: 1413-571-X. Disponível em: <<https://www.revistaclinicaveterinaria.com.br/edicao/2020/maio-junho.html>>. Acesso em: 11 de julho 2020.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (C). **Infection with sars-cov-2 in animals** (03/07/2020). OIE, 2020. 4 p. Disponível em:

<<https://cutt.ly/UgcBzMo>>. Acesso em 23 de julho de 2020.

WRAL. **Chapel Hill pug tests positive for coronavirus; first known dog case in the US**. WRAL, 2020. Disponível em: <<https://www.wral.com/coronavirus/pug-with-coronavirus-first-dog/19074499/>>. Acesso em 11 de julho 2020.

GARCIA, R.C.M.; MALDONADO, C. Medicina Veterinária do Coletivo: um novo desafio para os veterinários. **Clínica Veterinária**, Ano XIV, n. 82, p. 28-30, 2009. ISSN:1413-571-X.

ANCLIVEPA. **Medicina Veterinária do Coletivo**, Anclivepa-SP, 2020. Disponível em: <<https://anclivepa-sp.com.br/2015/educacao/cursos/especializacao/medicina-veterinaria-docoletivo/>>. Acesso em 12 de julho de 2020.

MENG, H. et al. CT imaging and clinical course of asymptomatic cases with COVID-19 pneumonia at admission in Wuhan, China. **Journal of Infection**, v. 81, n. 1, p. e33-e39, 2020. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.004.

GAO, T.; PAN, X.; PAN, C. The fate of house cats during the COVID-19 pandemic. **Microbes and Infection**, v. 22, n. 4-5, p. 157, 2020. doi: 10.1016/j.micinf.2020.04.006.

SHI, J. et al. Susceptibility of ferrets, cats, dogs, and other domesticated animals to SARS-coronavirus 2. **Science**, v. 368, n. 6494, p. 1016-1020, 2020. doi: 10.1126/science.abb7015.

KIM, Y. I. et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets. **Cell Host & Microbe**, v. 27, n. 5, p. 704-709, 2020. doi: 10.1016/j.chom.2020.03.023

WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY NEWSROOM(A). **Update on the Bronx Zoo on tiger which tested positive for COVID-19: Nadia's condition improving – along with the condition of the other tigers and lions which had similar symptoms**. WCS, 2020. Disponível em: <<https://cutt.ly/xgcBVg3>>. Acesso em 11 de julho de 2020.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (D). **SARS-CoV-2 positive test result in a tiger in the USA (06/04/2020)**. OIE, 2020. Disponível em: <<https://cutt.ly/ygcBNfr>>. Acesso em 11 de julho 2020.

OIE - WORLD ORGANISATION FOR ANIMAL HEALTH (E). **SARS-CoV-2 positive test result in a lion in the USA. Follow-up report nº. 2. (22/04/2020)**. OIE, 2020. Disponível em: <https://www.oie.int/wahis_2/public/wahid.php/Reviewreport/Review?reportid=3405>. Acesso em 11 de julho 2020.

WILDLIFE CONSERVATION SOCIETY NEWSROOM (B). **Update: Bronx Zoo tigers and lions recovering from COVID-19**. WCS, 2020. Disponível em: <<https://cutt.ly/ZgcB3kb>>. Acesso em 11 de julho 2020.

LAU, E. **Tigers, lions, and the novel coronavirus: a discovery unfolding**. Vin News Service, 2020. Disponível em: <<https://news.vin.com/default.aspx?pid=210&id=9613371>>. Acesso em: 11 de julho 2020.

CDC - CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **COVID-19 and animals**. CDC, 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/daily-life-coping/animals.html>>. Acesso em 11 de julho 2020.

THE OHIO STATE UNIVERSITY. **COVID-19 and animals** (18/05/2020). OSU, 2020. Disponível em: <<https://vet.osu.edu/about-us/news/covid-19-and-animals>>. Acesso em 11 de julho 2020.

SILVA, S. J. R.; SILVA, C. T. A.; GUARINES, M.; MENDES, R. P. G.; PARDEE, K.; KOHL, A.; PENA, L. J. Clinical and laboratory diagnosis of SARS-CoV-2, the virus causing COVID-19. **ACS Infectious Diseases**, v. 6, n. 9, p. 2319- 2336, 2020. doi:10.1021/acsinfecdis.0c00274.

WANG, W.; XU, Y.; GAO, R.; LU, R.; HAN, K.; WU, G.; TAN, W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. **Journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.3786.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19): interim guidance, 12 February 2020**. WHO, 2020. 13 p. Disponível em: <<https://cutt.ly/PgcNq0z>>. Acesso em 21 de outubro de 2020.

OLIVEIRA, B.A.; OLIVEIRA, L. C.; SABINO, E. C.; OKAY, T. S. SARS-CoV-2 and the COVID-19 disease: a mini review on diagnostic methods. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, n. e44, p. 1-8, 2020. doi: 10.1590/S1678-9946202062044.

MENEZES, M. E. **Diagnóstico laboratorial do coronavírus (SARS-CoV-2) causador da COVID-19**. Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, 2020. Disponível em: <<https://www.sbac.org.br/blog/2020/03/30/diagnostico-laboratorial-do-coronavirus-sarscov-2-causador-da-covid-19/>>. Acesso em 12 de julho de 2020.

WOLFEL, R. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. **Nature**, v. 581, n. 7809, p. 465-469, 2020. doi: 10.1038/ s41586-020-2196-x.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA. **Métodos laboratoriais para diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2**. SBPC, 2020. Disponível em:

<<http://www.sbpc.org.br/wp-content/uploads/2020/04/MetodosLaboratoriaisDiagnosticoSARS-CoV-2.pdf>>. Acesso em 12 de julho de 2020.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim COE COVID-19. Centro de Operações de Emergência em Saúde Pública/Doença pelo coronavírus 2019, Boletim Epidemiológico 12 COE COVID-19.** – Ministério da Saúde, 19 de abril de 2020. Disponível em: <<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/Abril/19/BE12-Boletim-do-COE.pdf>>. Acesso em 11 de julho de 2020.

WENTWORTH, D. E.; HOLMES, K. V. Molecular determinants of species specificity in the coronavirus receptor aminopeptidase N (CD13): influence of N-linked glycosylation. **Journal of Virology**, v. 75, n. 20, p.9741-9752, 2001. doi: 10.1128/JVI.75.20.9741-9752.2001.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance.** WHO, 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>>. Acesso em 12 de julho de 2020.

BRASIL - MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. **Guia de Vigilância Epidemiológica: emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019.** Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/af_gvs_coronavirus_6ago20_ajustes-finais-2.pdf>. Acesso em 12 de julho de 2020.

DENG, J. et al. Serological survey of SARS-CoV-2 for experimental, domestic, companion and wild animals excludes intermediate hosts of 35 different species of animals. **Transboundary and Emerging Diseases**, v. 67, n. 4, p. 1745- 1749, 2019. doi:10.1111/tbed.13577.

LONG, Q.X. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. **Nature Medicine**, v. 26, n. 6, p. 845-848, 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.

UFMG - UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS. **RT-PCR ou sorológico? Entenda as diferenças entre os testes para a covid-19.** UFMG, 2020. Disponível em: <<https://www.medicina.Ufmg.br/rt-pcr-ou-sorologico-entenda-as-diferencas-entre-os-testes-para-a-covid19/>>. Acesso em: 12 de julho de 2020.

SILVA, S. J. R.; PENA, L. J. A word of caution in interpreting COVID19 diagnostics tests. **Journal of Medical Virology**, p. 1-2, 2020. doi: 10.1002/jmv.26531.

TANG, M. S. ; HOCK, K.G. ; LOGSDON, N. M. ; HAYES, J. E. ; GRONOWSKI, A. M.; ANDERSON, N. W. ; FARNSWORTH, C. W. Clinical performance of two SARS-CoV-2 serologic assays. **Clinical Chemistry**, n. 66, p. 1055, 2020. doi:10.1093/clinchem/hvaa120.

ANEXOS

A) Aprovação em edital de Apoio a Atividades de Pesquisa

19/01/2021

SEI/UFPR - 2887365 - Despacho



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
 COORDENADORIA DE PESQUISA CIENTÍFICA E DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
 Rua XV de Novembro, 1299, - Bairro Centro, Curitiba/PR, CEP 80060-000
 Telefone: (41) 3360-5000 - <http://www.ufpr.br/>

Despacho nº 672/2020/UFPR/R/PRPPG/PESQUISA

Processo nº 23075.037498/2020-40

Caro(a) pesquisador(a),

Informamos que a proposta submetida ao **Edital nº 02/2020 – PESQUISA/PRPPG/UFPR - Apoio a Atividades de Pesquisa** teve mérito na avaliação pela Comissão e foi contemplada para execução nos termos do edital.

O valor autorizado para execução é de **R\$ 19.900,00**.

Assim, retomamos o processo para que sejam juntadas as documentações necessárias para o encaminhamento das demandas aprovadas para execução pela FUNPAR. As orientações estão disponíveis na página do Edital 02/2020 em: <http://www.prppg.ufpr.br/site/orientacoes-para-execucao-do-edital-002-2020-pesquisa-prppg-apoio-a-atividades-de-pesquisa/>

Orientações gerais:

Quanto as bolsas de iniciação científica, o prazo para o envio dos documentos (disponíveis na página acima ao clicar no botão “Bolsas de IC”) é de **04/09/2020**. Após aprovada a indicação, os alunos iniciarão suas atividades em **01/10/2020**.

Atenção: para os projetos que demandem compras/serviços/diárias e/ou passagens (exceto para bolsas de IC) deverá ser aberto um novo processo para cada pedido no Sistema SEI. Cada novo processo deverá ser relacionado ao processo já aberto da proposta submetida e aprovada. Para relacionar no Sistema SEI o novo processo ao da proposta aprovada, basta clicar no botão “Relacionamentos do Processo” e informar o número do processo SEI da proposta aprovada.

Quanto ao recebimento das aquisições e/ou prestações dos serviços, reforçamos que só poderão ser solicitados ao fornecedor após recebimento da Ordem de Fornecimento emitida pela FUNPAR (documento que autoriza a contratação, similar ao empenho emitido na UFPR).

Observação: quanto as diárias e passagens informamos que, em razão da Pandemia da COVID-19, as passagens e diárias nacionais a serem concedidas para realização de reuniões de trabalho ou atividades em campo somente poderão ser utilizadas após o término do prazo de adoção obrigatória do regime de trabalho remoto estabelecido pelas portarias expedidas pela Reitoria. Desse modo, o valor a ser depositado na conta do beneficiário também fica condicionado à vigência do regime estabelecido.

19/01/2021

SEI/UFPR - 2887365 - Despacho

Atenciosamente,



Documento assinado eletronicamente por **ANDRE SHIBATA, ASSISTENTE EM ADMINISTRACAO**, em 21/08/2020, às 17:35, conforme art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.



A autenticidade do documento pode ser conferida [aqui](#) informando o código verificador **2887365** e o código CRC **78050EB3**.

Referência: Processo nº 23075.037498/2020-40

SEI nº 2887365

B) Questionário Epidemiológico – Humanos

Questionário Epidemiológico

Nome:
Data de nascimento:
Email:
Dados étnicos Branco() negro() pardo() índio() amarelo() outro()
Escolaridade: Sem alfabetização () primário incompleto () primário completo () fundamental incompleto () fundamental completo () ensino médio incompleto () ensino médio completo() Superior incompleto() superior completo() pós-graduação()
Telefone com DDD:
Local de trabalho:
Qual a sua função:
Possui contato direto com animais? Sim() não()
Se sim, qual a frequência? Todos os dias () duas vezes por semana () uma vez por semana () Duas vezes por mês() uma vez por mês() não possui contato com animais no trabalho()
Animais que possui contato no trabalho: Domésticos (cão e gato)() silvestres () domésticos e silvestres () Não tem contato direto com animais no trabalho ()
Quantas pessoas moram na sua residência incluindo você?
Possui cão e/ou gato de estimação? Cão () gato () outro animal de estimação () não possui animais de estimação ()
Você possui alguma comorbidade? Hipertensão (pressão alta)() diabetes (tipo i ou ii)() asma ou bronquite () Colesterol alto () doença renal crônica () insuficiência cardíaca () Câncer () nenhuma comorbidade ()
Apresentou alguns destes sintomas durante a pandemia? Dor de cabeça () febre () tosse seca() dificuldade de respirar ou falta de ar () diarréia() Dores no corpo() dor de garganta() cansaço() perda de olfato e/ou paladar() Nenhum sintoma() outro:
Caso tenha tido sintomas, procurou o sistema de saúde? Sim() não()
Foi internado com covid-19? Sim() não() não teve covid-19()
Você já teve contato com alguém que estava positivo para covid-19? Sim () não ()

C) Ficha epidemiológica - animais

Ficha Epidemiológica Animais Zoológico Municipal de Curitiba

Entrevistador: _____, Data: ___/___/____, Identificação da amostra: _____.

1. Nome entrevistado:				
2. Nome animal:		3. Espécie:		
4. Nome científico:				
5. Localização (Recinto):				
6. Número animais recinto:				
7. Tratador recinto:				
Dados animal:		8. Sexo: <input type="checkbox"/> Macho		<input type="checkbox"/> Fêmea
9. Idade aproximada:				
10. Tempo que reside no zoológico:				
11. Tempo que está neste recinto:				
12. Escore condição corporal: <input type="checkbox"/> 1				
<input type="checkbox"/> 2	<input type="checkbox"/> 3	<input type="checkbox"/> 4	<input type="checkbox"/> 5	
13. Peso aproximado animal:				
14. Enfermidade prévia:				
15. Apresentou algum dos sinais clínicos nos últimos 3 meses:				
<input type="checkbox"/> febre		<input type="checkbox"/> tosse seca		<input type="checkbox"/> prostração
<input type="checkbox"/> diarreia		<input type="checkbox"/> emagrecimento		<input type="checkbox"/> perda do apetite
16. Realização exame clínico?		<input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não
16.1. Se sim, diagnóstico:				
17. Já houve melhora clínica?		<input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não
17.1. Se sim, após quanto tempo do aparecimento do sinal clínico?				
17.2. Se não, qual sinal clínico permanece?				
18. Outros animais do recinto apresentaram sinais clínicos semelhantes?		<input type="checkbox"/> sim		<input type="checkbox"/> não
18.1. Se sim, quantos animais?			18.2. Se sim, quais os sinais clínicos?	
19. Observações: _____				

