

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAURA HOLTMAN FERREIRA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM PACIENTES COM COVID-19
COM ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 E HOSPITALIZADOS NO
COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO
PARANÁ (CHC-UFPR)

CURITIBA

2023

LAURA HOLTMAN FERREIRA

AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM PACIENTES COM COVID-19 COM
ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 E HOSPITALIZADOS NO COMPLEXO
HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (CHC-
UFPR)

Dissertação apresentada ao curso de Pós-Graduação em Microbiologia Parasitologia e Patologia, área de concentração em microbiologia, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Microbiologia, Parasitologia e Patologia

Orientadora: Prof^a. Dra. Sonia Mara Raboni

CURITIBA

2023

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

Ferreira, Laura Holtman

Avaliação clínica e laboratorial em pacientes com Covid-19 com esquema vacinal anti-SARS-CoV-2 e hospitalizados no Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (CHC-UFPR) / Laura Holtman Ferreira. – Curitiba, 2023.
1 recurso on-line : PDF.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Sonia Mara Raboni.

1. SARS-CoV-2. 2. Vacinas. 3. Resposta imune. 4. Imunização. 5. Saúde pública. 6. Pandemia. I. Raboni, Sônia Mara. II. Universidade Federal do Paraná. Setor de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Microbiologia, Parasitologia e Patologia. III. Título.

Bibliotecária: Giana Mara Seniski Silva. CRB-9/1406

ATA Nº234

**ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE DEFESA DE MESTRADO PARA A OBTENÇÃO DO
GRAU DE MESTRA EM MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA**

No dia doze de março de dois mil e vinte e quatro às 14:00 horas, na sala Auditório do Centro de Pesquisa da Pneumologia, Setor de Ciências da Saúde, foram instaladas as atividades pertinentes ao rito de defesa de dissertação da mestranda **LAURA HOLTMAN FERREIRA**, intitulada: **"AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE PACIENTES COM COVID-19 COM ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 E HOSPITALIZADOS NO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (CHC-UFPR)"**. A Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA da Universidade Federal do Paraná, foi constituída pelos seguintes Membros: SONIA MARA RABONI (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ), VIVIANE FONGARO BOTOSSO (INSTITUTO BUTANTAN), DEBORA CARLA CHONG E SILVA (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ). A presidência iniciou os ritos definidos pelo Colegiado do Programa e, após exarados os pareceres dos membros do comitê examinador e da respectiva contra argumentação, ocorreu a leitura do parecer final da banca examinadora, que decidiu pela APROVAÇÃO. Este resultado deverá ser homologado pelo Colegiado do programa, mediante o atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca dentro dos prazos regimentais definidos pelo programa. A outorga de título de mestra está condicionada ao atendimento de todos os requisitos e prazos determinados no regimento do Programa de Pós-Graduação. Nada mais havendo a tratar a presidência deu por encerrada a sessão, da qual eu, SONIA MARA RABONI, lavrei a presente ata, que vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão Examinadora.

CURITIBA, 12 de Março de 2024.

Assinatura Eletrônica

08/07/2024 18:22:33.0

SONIA MARA RABONI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

26/07/2024 14:03:53.0

VIVIANE FONGARO BOTOSSO

Avaliador Externo (INSTITUTO BUTANTAN)

Assinatura Eletrônica

07/07/2024 23:12:08.0

DEBORA CARLA CHONG E SILVA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação MICROBIOLOGIA, PARASITOLOGIA E PATOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LAURA HOLTMAN FERREIRA** intitulada: **"AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DE PACIENTES COM COVID-19 COM ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 E HOSPITALIZADOS NO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (CHC-UFPR)"**, 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, 12 de Março de 2024.

Assinatura Eletrônica

08/07/2024 18:22:33.0

SONIA MARA RABONI

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

26/07/2024 14:03:53.0

VIVIANE FONGARO BOTOSSO

Avaliador Externo (INSTITUTO BUTANTAN)

Assinatura Eletrônica

07/07/2024 23:12:08.0

DEBORA CARLA CHONG E SILVA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico este trabalho aos meus pais, Wilson e Ester, meu marido Gabriel, e minha avós, Anna e Matilde, sem vocês isso jamais seria possível!

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus, pelo dom da vida e pela oportunidade de servi-lo na profissão que escolhi;

À CAPES, pelo apoio financeiro durante o mestrado, bem como à Organização Pan-Americana de Saúde e Instituto Oswaldo Cruz pelo financiamento do estudo. À Universidade Federal do Paraná, instituição responsável para que estes estudos acontecessem e responsável pela minha trajetória acadêmica nesta fase;

À equipe do Laboratório de Pesquisa em Virologia e Biologia Molecular (LabViroMol) da Universidade Federal do Paraná e do Laboratório de Virologia do Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná, principalmente à Dra Meri, Dra Luciane, Gisa, Dr Lucas, Breno e Ana Carolina que além grandes amigos e em incontáveis momentos me auxiliaram profissionalmente e pessoalmente, pelo carinho e confiança que depositaram em mim. Tem sido uma honra trabalhar com vocês!

À equipe do Centro de Pesquisa da Unidade de Infectologia do CHC-UFPR, pelo trabalho árduo desempenhado durante o estudo;

Ao Instituto Butantan e à Universidade Federal do Ceará, principalmente às Dras Viviane Botosso e Juliana Ueda, respectivamente, que auxiliaram na realização de testes que possibilitaram na execução destes estudos;

À minha orientadora, Dra Sonia Raboni, que a tempos vêm me auxiliando de maneira imensurável, me guiando com maestria desde meus primeiros passos na pesquisa científica. Pelas oportunidades de crescimento intelectual, profissional e sobretudo pessoal, a você minha eterna gratidão. Obrigada, de todo o meu coração!

À minha família, especialmente meus pais, Wilson e Ester, meus maiores incentivadores e exemplos de vida. À minha irmã, Flávia, que sempre esteve comigo;

Ao meu marido, Gabriel, pelo apoio incondicional, carinho e amor. Meu grande parceiro de vida que esteve ao meu lado desde o início da minha jornada acadêmica, eu te amo!

E aos meus grandes amigos, Breno e Lucas, meus companheiros em todas as etapas da realização deste projeto, obrigada por tanto!

Por fim, à equipe de Pesquisa Clínica do Complexo Hospital de Clínicas da UFPR, pelo incentivo, ajuda e parceria;

Seria impossível listar todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para minha caminhada até aqui. A todos vocês meu muito obrigada!

“Pensava que nós seguíamos caminhos já feitos, mas parece que não os há.
O nosso ir faz o caminho.” C. S. Lewis

RESUMO

A pandemia do Covid-19 desafiou o sistema de saúde pública, visto que, as opções terapêuticas atualmente disponíveis apresentam limitações em sua eficácia. Mesmo com o avanço da vacinação, ainda são observados casos de hospitalização pela Covid-19, sugerindo a queda da imunidade tempos após a conclusão do esquema vacinal. Dois estudos foram conduzidos em diferentes abordagens, uma coorte retrospectiva majoritariamente clínica e epidemiológica e outro estudo de caráter transversal, ambos envolvendo pacientes admitidos em um hospital terciário no sul do Brasil. No estudo de coorte retrospectiva (estudo 1) pacientes com esquema vacinal, mesmo que incompleto, foram incluídos no estudo e uma amostra de *swab* nasal, quando disponível, foi enviada para sequenciamento nucleotídico. Um total de 218 pacientes foram incluídos e divididos de acordo com o status vacinal: se vacinado, se vacinação completa e se vacinação oportuna. Idade foi significativamente maior no grupo de vacinados, indo de acordo com o perfil de vacinação adotado no Brasil, que foi iniciado com grupos prioritários e entre estes os idosos. Estatisticamente, a vacinação por si só não apresentou diferença significativa de proteção, embora pacientes com esquema vacinal completo apresentaram maior desfecho de alta, porém, o intervalo de tempo entre a última dose e a infecção pelo vírus foi insuficiente para soroconversão. Além disso, a maioria dos pacientes recebeu o imunizante CoronaVac, que apresentou efetividade vacinal reduzida quando comparada às demais. A maioria dos pacientes foram infectados pela variante de preocupação Gama, que foi a principal variante de circulação no período do estudo, o que também pode ter contribuído para uma menor resposta vacinal. No estudo transversal (estudo 2), 37 pacientes com Covid-19 foram incluídos, estes apresentavam esquema vacinal completo e tiveram amostras de soro obtidas sequencialmente em um intervalo de 7 dias até o desfecho. Teste de dosagens de citocinas, anticorpos IgA e IgG e cVNT para titulação de anticorpos neutralizantes (nAb) foram realizados. Além disso, a primeira amostra de cada paciente foi submetida à dosagem de citocinas que demonstrou expressões de IL-10, IL-18 e MCP-1. Quando comparados com uma coorte de pacientes doentes e não vacinados, nota-se que a expressão foi maior em título e em quantidade de citocinas no grupo de não vacinados, sugerindo um fator protetivo da vacina no quesito de exacerbação do perfil inflamatório. A MCP-1 esteve expressa em pacientes com alteração dos níveis de D-dímero e foi descrita na literatura como um possível marcador de prognóstico de óbito em pacientes críticos. Um total de 98% das amostras que tiveram os níveis de nAb medidos apresentaram neutralização para alguma variante, sendo a Wuhan com maior média de nAb, o que condiz com o cenário visto que as vacinas foram desenvolvidas no combate desta cepa inicial. De todas as variantes, Ômicron apresentou o perfil mais distinto de expressão de citocinas inflamatórias. Dados sobre o perfil de pacientes infectados e imunidade sorológica pode auxiliar em estratégias de atualização vacinal e manejo de pacientes frente as vacinas aplicadas e cepas circulantes.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, vacina, resposta imune, imunização, saúde pública, pandemia.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic has challenged the public health system, as currently available therapeutic options have limitations in their effectiveness. Even with the advancement of vaccination, cases of hospitalization due to Covid-19 are still observed, suggesting a decline in immunity some time after the completion of the vaccination schedule. Two studies were conducted using different approaches, a retrospective cohort, mostly clinical and epidemiological, and another cross-sectional study with laboratory evaluation, both involving patients admitted to a tertiary hospital in southern Brazil. In the retrospective cohort study (study 1), patients with a vaccination schedule, even if incomplete, were included in the study and a nasal swab sample, when available, was sent for nucleotide sequencing. A total of 218 patients were included and divided according to vaccination status: whether vaccinated, whether fully vaccinated, and whether timely vaccination. Age was significantly higher in the vaccinated group, in accordance with the vaccination profile adopted in Brazil, which started with priority groups and among these the elderly. Statistically, vaccination alone did not show a significant difference in protection, although patients with a complete vaccination schedule had a higher discharge outcome, however, the time interval between the last dose and virus infection was insufficient for seroconversion. Furthermore, most patients received the CoronaVac vaccine, which showed reduced vaccine effectiveness when compared to the others. The majority of patients were infected by the Gamma variant of concern, which was the main circulating variant during the study period, which may also have contributed to a lower vaccine response. In the cross-sectional study (study 2), 37 patients with Covid-19 were included, they had a complete vaccination schedule and had serum samples obtained sequentially at an interval of 7 days until the outcome. Cytokine, IgA and IgG antibodies and cVNT dosage tests for neutralizing antibodies (nAb) titration were performed. Furthermore, the first sample from each patient was subjected to cytokine measurement, which demonstrated expressions of IL-10, IL-18 and MCP-1. When compared with a cohort of sick and unvaccinated patients, it is noted that the expression was higher in titer and quantity of cytokines in the unvaccinated group, suggesting a protective factor of the vaccine in terms of exacerbating the inflammatory profile. MCP-1 was expressed in patients with altered D-dimer levels and was described in the literature as a possible prognostic marker for death in critically ill patients. A total of 98% of the samples whose nAb levels were measured showed neutralization for some variant, with Wuhan having the highest average of nAb, which is consistent with the scenario given that the vaccines were developed to combat this initial strain. Of all the variants, Omicron presented the most distinct profile of inflammatory cytokine expression. Data on the profile of infected patients and serological immunity can assist in vaccination update strategies and patient management in relation to the vaccines applied and circulating strains.

Keywords: SARS-CoV-2, vaccine, immune response, immunization, public health, pandemic.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1- LINHA DO TEMPO SARS-COV-2 DESDE SUA IDENTIFICAÇÃO ATÉ O INÍCIO DESTE ESTUDO	16
FIGURA 2 - DENDROGRAMA DOS QUATRO GÊNEROS DO CORONAVÍRUS	19
FIGURA 3 - DIAGRAMA DAS VARIANTES IDENTIFICADAS NO BRASIL E SUA CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A OMS	21
FIGURA 4 - ESTRUTURA DO SARS-COV-2 E MECANISMOS DE ENTRADA MEDIADA POR PROTEASES	23
FIGURA 5 - IMUNOFISIOPATOLOGIA DO SARS-COV-2 APÓS ENTRADA DO VÍRUS NA CÉLULA E PROCESSO DE INFLAMAÇÃO DA COVID-19	25
FIGURA 6 - TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO PARA COVID-19 DISPONÍVEIS.....	27
FIGURA 7 - VARIAÇÕES NO TEMPO DE DIAGNÓSTICO DE COVID-19 DE ACORDO COM DIAS DE SINTOMAS	28
FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO DAS VARIANTES E NPUMETO DE MORTES (A) E COBERTURA VACINAL NO BRASIL E NÚMERO DE CASOS DE INFECÇÃO (B) POR SEMANA EPIDEMIOLÓGICA.....	33
FIGURA 9 - CASUÍSTICA DOS ESTUDOS REALIZADOS.....	35
FIGURA 10 - FLUXOGRAMA DOS RESULTADOS DOS GRUPOS ANALISADOS NOS ESTUDOS 1 E 2.....	41
FIGURA 11 - CURVAS DE SOBREVIVÊNCIA (KAPLAN-MEIER) DE PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19 COM E SEM VACINAÇÃO (A) E COM VACINAÇÃO COMPLETA OU INCOMPLETA (B).....	48
FIGURA 12 - FREQUÊNCIA DO DESFECHO ÓBITO E DIAS DE SINTOMAS NOS PACIENTES VACINADOS.....	51
FIGURA 13 - DISTRIBUIÇÃO DAS VOCES IDENTIFICADAS NOS PACIENTES POR MÊS E NÚMERO DE HOSPITALIZAÇÕES POR MÊS NO ANO DE 2021	52
FIGURA 14 - ÁRVORE FILOGENÉTICA COM DISTÂNCIA DE MÁXIMA VEROSSIMILHANÇA COMPOSTA, REPRESENTANDO 178 GENOMAS COMPLETOS E SEQUÊNCIAS REFERÊNCIA, COLORIDOS DE ACORDO COM O GRADIENTE DE BOOTSTRAP ..	52
FIGURA 15 - EXPRESSÃO DAS CITOCINAS TESTADAS EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E COM VACINAÇÃO COMPLETA	

COMPARADO COM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E SEM VACINAÇÃO.....	57
FIGURA 16 - TITULAÇÃO DE CITOCINAS EM DOENTES VACINADOS E NÃO VACINADOS.....	58
FIGURA 17 - EXPRESSÃO DE CITOCINAS IFN- γ , MCP-1 e IL-18 EM CORRELAÇÃO AOS RESULTADOS LABORATORIAIS DE LEUCÓCITOS, TAP E D-DÍMERO	59
FIGURA 18 - ANÁLISE PARCIAL DE IGA E IGG (ÍNDICE) DE ACORDO COM O DESFÉCHO	61
FIGURA 19 - EXPRESSÃO DE CITOCINAS NAS VARIANTES WUHAN, DELTA, ÔMICRON E GAMA.....	62

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 - DADOS COLETADOS RETROATIVAMENTE PARA O ESTUDO 1...37

QUADRO 2 - CITOCINAS TESTADAS NO SORO DOS PACIENTES DO ESTUDO 2
.....40

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - VACINAS APROVADAS NO BRASIL E TIPOS DE TECNOLOGIA APLICADAS	32
TABELA 2 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES VACINADOS E NÃO VACINADOS.....	42
TABELA 3 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES COM VACINAÇÃO COMPLETA E INCOMPLETA	44
TABELA 4 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES COM VACINAÇÃO OPORTUNA E NÃO OPORTUNA....	46
TABELA 5 - DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM COVID-19 E VACINAÇÃO COMPLETA	54
TABELA 6 - RESULTADOS CVNT DAS AMOSTRAS DE PACIENTES COM ESQUEMA VACINAL COMPLETO E HOSPITALIZADOS POR COVID-19	61

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

ADE	- Aprimoramento dependente de anticorpos (do inglês, <i>Antibody-dependent enhancement</i>)
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATP	- Adenosina Trifosfato (do inglês, <i>Adenosine TriPhosphate</i>)
CS	- Tempestade de citocinas (do inglês, <i>Cytokine Storm</i>)
CG	- Complexo de Golgi
Covid-19	- Doença do Coronavírus (do inglês, <i>Corona Virus Disease</i>)
CRISPR	- Conjunto de Repetições Palindrômicas Curtas Regularmente Espaçadas (do inglês, <i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i>)
cVNT	- Convencional de Neutralização de Vírus (do inglês, <i>Conventional Virus Neutralization Test</i>)
DAMPs	- Molécula associadas ao dano (do inglês, <i>Damage-associated molecular pattern</i>)
ECA2	- Enzima conversora da Angiotensina 2
ELISA	- Ensaio imunoabsorvente ligado à enzima
FMV	- Variantes previamente monitoradas (do inglês, <i>Formerly Monitored Variants</i>)
IFN- α	- Interferin-alfa
IFN- γ	- Interferon-gama
IgA	- Imunoglobulina A
IgG	- Imunoglobulina G
IgM	- Imunoglobulina M
IL-1B	- Interleucina 1B
IL-2	- Interleucina 2
IL-4	- Interleucina 4
IL-5	- Interleucina 5

IL-6	- Interleucina 6
IL-7	- Interleucina 7
IL-8	- Interleucina 8
IL-9	- Interleucina 9
IL-10	- Interleucina 10
IL-12p70	- Interleucina 12p70
IL-13	- Interleucina 13
IL-17A	- Interleucina 17A
IL-18	- Interleucina 18
IL-21	- Interleucina 21
IL-22	- Interleucina 22
IL-23	- Interleucina 23
IL-27	- Interleucina 27
GISAID	- Iniciativa Global de Compartilhamento de Todos os Dados da Influenza (do inglês, <i>Global Initiative on Sharing All Influenza Data</i>)
GM-CSF	- Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (do inglês, <i>Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>)
LAMP	- Amplificação isotérmica mediada por alça (do inglês, <i>Loopmediated isothermal amplification</i>)
LVRS	- Laboratório de Vírus Respiratórios e do Sarampo
MCP-1	- Proteína Químioatraente de Monócitos-1 (do inglês, <i>Monocyte Chemoattractant Protein-1</i>)
NSPs	- Proteínas não estruturais (do inglês, <i>Non-Structural Proteins</i>)
OMS	- Organização Mundial da Saúde
ORFs	- Fases de leitura aberta (do inglês, <i>Open Reading Frame</i>)
RBD	- Domínio de ligação do receptor (do inglês, <i>Receptor Binding Domain</i>)
RE	- Retículo endoplasmático

RNA	- Ácido ribonucleico
TAP	- Tempo de atividade da Protrombina
TMPRSS2	- Serina proteinase 2 transmembrana
TNF- α	- Fator de necrose tumoral alfa (do inglês, <i>Tumoral Necrosis Factor Alpha</i>)
UTI	- Unidade de Terapia Intensiva
VOCs	- Variantes de preocupação (do inglês, <i>Variants of Concern</i>)
VOI	- Variantes de interesse (do inglês, <i>Variants of Interest</i>)
VUM	- Variantes em monitoramento (do inglês, <i>Variants Under Monitoring</i>)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 HIPÓTESES A SEREM TESTADAS	17
1.2 OBJETIVOS	18
1.2.1 Objetivo geral	18
1.2.2 Objetivos específicos.....	18
1.3 JUSTIFICATIVA	18
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 O SARS-COV-2.....	18
2.1.1 Hospedeiros de origem	21
2.1.2 Estrutura viral e mecanismos de infecção celular	22
2.2 A COVID-19	24
2.2.1 Patogênese	24
2.2.2 Diagnóstico Laboratorial.....	26
2.2.3 Tratamento e Vacinação	30
3.0 MATERIAL E MÉTODOS	35
3.1 TIPO DE ESTUDO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	35
3.2 CASUÍSTICA.....	35
3.2.1 Casuística Estudo 1 – Coorte retrospectiva	35
3.2.2 Casuística Estudo 2 – Estudo transversal	36
3.3 MÉTODOS	37
3.3.1 Métodos Estudo 1 – Coorte retrospectiva	37
3.3.2 Métodos Estudo 2 – Estudo transversal.....	38
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
4.1 RESULTADOS ESTUDO 1 – COORTE RETROSPECTIVA.....	41
4.2 RESULTADOS ESTUDO 2 – ESTUDO TRANSVERSAL	54
5 CONCLUSÕES	65
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	66
REFERÊNCIAS.....	67
APÊNDICE 1 – PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP	76

1 INTRODUÇÃO

Com início no ano de 2019, em Wuhan, a Covid-19, doença causada pela infecção pelo coronavírus (SARS-CoV-2) se tornou uma das mais importantes pandemias recentes relatadas pela humanidade, com impactos na saúde pública, sociais, econômicos e ambientais ao redor do globo (SHEIKH, *et al.*, 2021).

Até o final de 2021, os medicamentos capazes de inibir a replicação do vírus causador da doença ainda não estavam prontamente disponíveis, e medidas como o distanciamento social e uso de máscaras foram adotadas a fim de minimizar a transmissão viral entre os indivíduos. Entretanto, desde a percepção do impacto da Covid-19, houve uma corrida pela formulação de vacinas eficazes na prevenção e atenuação da doença em indivíduos infectados (JIANG, *et al.*, 2020). No Brasil, o esquema de vacinação foi iniciado em larga escala com o uso de 4 vacinas produzidas utilizando diferentes plataformas, todas com estudos clínicos conduzidos também no Brasil, regulamentados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) no país. Atualmente, medicamentos inibidores da replicação viral estão disponíveis na rede pública para pacientes ambulatoriais e hospitalizados que cumprirem uma série de critérios clínicos (MS, 2021).

No Brasil a imunização da população começou em janeiro de 2021, e foi realizada de forma gradativa preferencialmente em pacientes idosos, profissionais de saúde e pessoas com fatores de risco para gravidade, sendo subsequentemente direcionada para toda a população adulta e, no final de 2022, embora a liberação tenha sido a partir dos 6 meses de idade, por conta da escassez de doses infantis, a vacinação foi inicialmente realizada em indivíduos de 3 a 11 anos (MS, 2022). No entanto, a imunização em sua fase inicial ocorreu de forma lenta devido à restrição no quantitativo de vacinas e seus insumos. Adicionalmente, observou-se o aparecimento de variantes virais, dentre estas, as denominadas de variantes de preocupação (*variants of concern* - VOCs), que se caracterizam por apresentar mutações e deleções em sítios da proteína S que tem como consequência, um aumento na capacidade de entrada viral, replicação e escape imune, para os quais as vacinas agora disponíveis apresentam menor eficácia (LU, 2021). Com isso, observou-se um crescente aumento de pacientes hospitalizados por Covid-19 com histórico de vacinação prévia para SARS-CoV-2.

A vacina objetiva a proteção através da produção de anticorpos neutralizantes (nAb) que são capazes de ligar-se ao sítio de ligação de proteínas virais, como por exemplo a proteína spike (S), impedindo assim que o vírus entre na célula do hospedeiro responsável pelo desenvolvimento da doença (BELDA-INIESTA, 2021). Atualmente, o teste considerado padrão-ouro para a determinação de proteção imunológica é o Teste de Redução de Neutralização em Placa (PRNT), visto que os outros testes, como os ensaios imunoenzimáticos e de quimioluminescência, que detectam anticorpos totais anti-SARS-CoV-2, não são considerados correlatos de imunidade, uma vez que nem todos os anticorpos de ligação podem bloquear a infecção viral, estes testes não medem funcionalmente a inibição do anticorpo da infecção por SARS-CoV-2. No entanto, devido ao seu baixo rendimento, o PRNT não é prático para sorodiagnóstico em larga escala e avaliação de vacinas. Até o momento, não existem registros públicos do uso da técnica de cVNT para avaliação das vacinas aplicadas em pacientes brasileiros. Visto isso, esta é uma lacuna importante para a vigilância Covid-19 e estudos de resposta à imunização contra a Covid-19 (LEVI, *et al.*, 2021).

Além disso, observou-se que após os primeiros vacinados completarem mais de 6 meses da imunização, ocorre uma redução absoluta nos títulos de anticorpos e com um aumento de infecções por novas VOC, portanto faz-se necessário que análises sejam realizadas buscando uma correlação entre os títulos de anticorpos neutralizantes, presença de infecção por SARS-CoV-2 e gravidade de doença (POUWELS, *et al.*, 2021).

1.1 HIPÓTESES A SEREM TESTADAS

H₁: Pacientes vacinados apresentam maior desfecho de mortalidade do que os não vacinados.

H₀: Pacientes vacinados que internam por Covid-19 apresentam baixos títulos de citocinas inflamatórias e perfil menos grave de infecção quando comparado com pacientes não vacinados.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo geral

Descrever os aspectos demográficos, clínicos e imunológicos de pacientes hospitalizados por Covid-19 previamente imunizados para SARS-CoV-2.

1.2.2 Objetivos específicos

- Identificar, por meio de Testes de neutralização, o título de anticorpos anti-SARS-CoV-2 em pacientes hospitalizados com Covid-19 e que possuem o esquema vacinal completo;
- Avaliar a diferença de desfecho entre pacientes que foram vacinados (vacinação oportuna) dos pacientes não vacinados;
- Caracterizar por sequenciamento nucleotídico as cepas de SARS-CoV-2 responsáveis pela infecção dos indivíduos incluídos no estudo;
- Avaliar a gravidade de doença e correlacionar com os títulos e anticorpos neutralizantes detectados;
- Avaliar a presença de marcadores solúveis da resposta imune e correlacionar com forma clínica e prognóstico dos pacientes comparando com uma coorte de pacientes não imunizados internados com Covid-19;
- Avaliar por meio de análise dos dados qualitativos e semiquantitativos, a resposta imune humoral (IgG e IgA anti-S1 do SARS-CoV-2) dos pacientes incluídos no estudo.

1.3 JUSTIFICATIVA

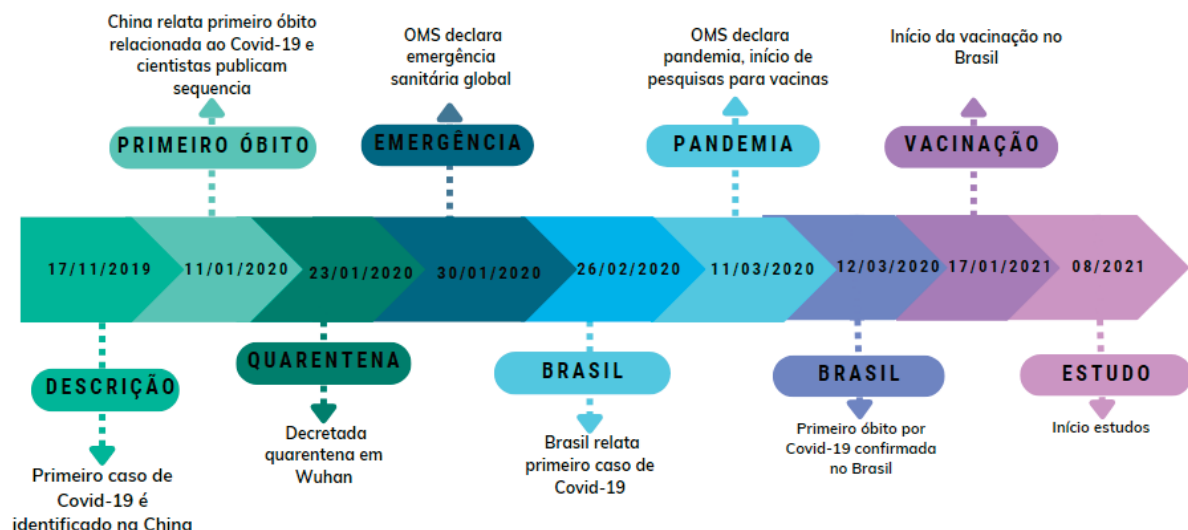
A vacinação anti-SARS-CoV-2 foi a medida mais importante para reduzir a gravidade da doença, proteção de grupos vulneráveis e que está permitindo um retorno à normalidade no mundo. Porém, a variabilidade genética com seleção de variantes com potencial de escape imunológico, assim como a resposta imune transitória à infecção e à vacinação continuam sendo um desafio. Ainda há muitos *gaps* de conhecimento sobre este tema. Desta forma, o presente estudo buscou compreender e descrever aspectos filogenéticos do vírus circulante assim como as respostas imune humoral e celular a esta infecção da população de nossa região.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O agente causador da Covid-19, o SARS-CoV-2 foi inicialmente observado em Wuhan, na China em 2019. Em 09 de janeiro de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) publicou a confirmação de circulação do novo vírus e no dia seguinte a primeira sequência nucleotídica do vírus foi publicada em sites científicos. A partir desta publicação, foram observados relatos de pessoas infectadas em outros países, demonstrando a rápida disseminação da doença ao redor do globo, bem como adoção de medidas restritivas na tentativa de contenção da disseminação (LANA, *et al.*, 2020).

Em 30 de janeiro de 2020 a epidemia do SARS-CoV-2 foi decretada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como emergência em saúde pública. E, em 11 de março do mesmo ano, foi declarada pandemia, no mesmo dia a primeira infecção comunitária foi confirmada do Brasil, e no dia seguinte, a primeira morte por Covid-19 foi relatada (Figura 1).

FIGURA 1- LINHA DO TEMPO DE EVENTOS IMPORTANTES DO SARS-COV-2 DESDE SUA IDENTIFICAÇÃO ATÉ O INÍCIO DESTE ESTUDO



Fonte: O autor (2023).

Com a disseminação viral e expansão dos casos, medidas de contenção não farmacológicas como uso de máscaras, distanciamento social e lavagem frequente de mãos foram adotadas, algumas se tornando obrigatórias, na tentativa de conter a

disseminação da doença (OMS, 2019; ORTELAN, *et al.*, 2021). A partir disso, uma corrida para a formulação de vacinas foi iniciada, e diversas plataformas com diferentes tecnologias começaram a ser investigadas.

Desde o início de 2021 diversos imunizantes contra a Covid-19 foram desenvolvidos. Alguns destes foram utilizados em larga escala ao redor do globo na tentativa de reduzir a mortalidade, bem como a transmissão do SARS-CoV-2. A partir disso, diversos estudos sobre a efetividade das vacinas disponíveis em diferentes regiões foram realizados, comprovando a efetividade vacinal e seu impacto na pandemia (POUWEL, *et al.*, 2021; LIU, *et al.*, 2021; ISRAEL, *et al.*, 2021; CERQUEIRA-SILVA, *et al.*, 2021).

Países com ampla cobertura vacinal e já em fase avançada de vacinação relataram a efetividade desta no controle da transmissão e desfechos, que incluem redução da hospitalização e das taxas de óbito desde o começo da aplicação das doses (GRIFFIN, 2021; MIZRAHI, *et al.*, 2021). Entretanto, os mesmos países com ampla cobertura vacinal observaram aumento rápido na frequência de casos da doença, propondo que uma queda na imunidade possa ocorrer com o passar do tempo (ISRAEL, *et al.*, 2021).

Até o final de setembro 2021, aproximadamente 38% da população brasileira foi vacinada com o esquema completo, o que correspondia à 67,4 milhões de brasileiros imunizados. Até fevereiro de 2024, 80,5% dos brasileiros estavam totalmente vacinados (MS, 2023). O ritmo lento da vacinação, a presença de variantes com maior transmissibilidade, o possível escape aos anticorpos neutralizantes e a espera sobre os resultados definitivos das vacinas em reduzir a morbimortalidade e transmissibilidade do vírus fomentam a necessidade de estudos que demonstrem respostas imune aos diferentes esquemas vacinais e plataformas utilizadas, assim como as abordagens no manejo da doença e prevenção da transmissão do vírus (LEVI e LEVI, 2021).

No calendário vacinal brasileiro os primeiros indivíduos imunizados estão completando 36 meses desde a conclusão do esquema de vacinação. A redução dos títulos de anticorpos neutralizantes nos primeiros vacinados e o aumento na frequência de infecções pelas variantes virais de preocupação emergentes são limitações levantadas em países de alta cobertura vacinal, como por exemplo, o Reino Unido e Israel. No Brasil, até o momento, não existem registros que correlacionem a avaliação da resposta pelo método de titulação de anticorpos

neutralizantes pela técnica de cVNT (GRIFFIN, 2021; MIZRAHI, *et al.*, 2021). Dados sobre hospitalização por Covid-19 de indivíduos vacinados e os desfechos destes casos no Brasil também são escassos. Esses dados devem ser seguidos cuidadosamente para avaliar se o aumento da taxa de infecção de risco observado em indivíduos com uma vacina mais antiga também está associado a riscos aumentados de complicações graves (ISRAEL, *et al.*, 2021).

Além da queda de imunidade com o passar do tempo, devido à redução da titulação de anticorpos neutralizantes, foi observada a variação da proteção de acordo com a idade. A redução foi maior em indivíduos idosos, sobretudo acima de 80 anos, onde condições fisiológicas próprias da idade, como a imunosenescência, somados à maior prevalência de comorbidades elencaram esta faixa etária como o grupo aconselhável à aplicação da terceira e quarta dose (CERQUEIRA-SILVA, *et al.*, 2021).

As recomendações atuais são de aplicação de doses de reforço com estratégia heteróloga à vacinação inicial, seguindo uma série de resultados observados em estudos independentes, bem como adesão a esta estratégia que historicamente já foi executada para outras vacinas (LU, 2009). Além disso, evidências têm sido levantadas de que a aplicação de reforços poderia otimizar a resposta imune quando comparada à vacinação homóloga (LIU, *et al.*, 2021). Um melhor entendimento da eficácia, durabilidade e proteção das vacinas originalmente aplicadas, bem como a adesão à estratégia heteróloga se faz necessária para compreendermos os riscos e benefícios que esta pode ocasionar.

Frente ao atual cenário brasileiro que, independentemente da maior disponibilidade de vacinas, observa-se uma redução da cobertura vacinal para as doses de reforço, a apuração dos grupos mais suscetíveis à reinfecção, determinação da população indicada à dose reforço e identificação de maior redução de proteção podem auxiliar na adoção de medidas de saúde pública.

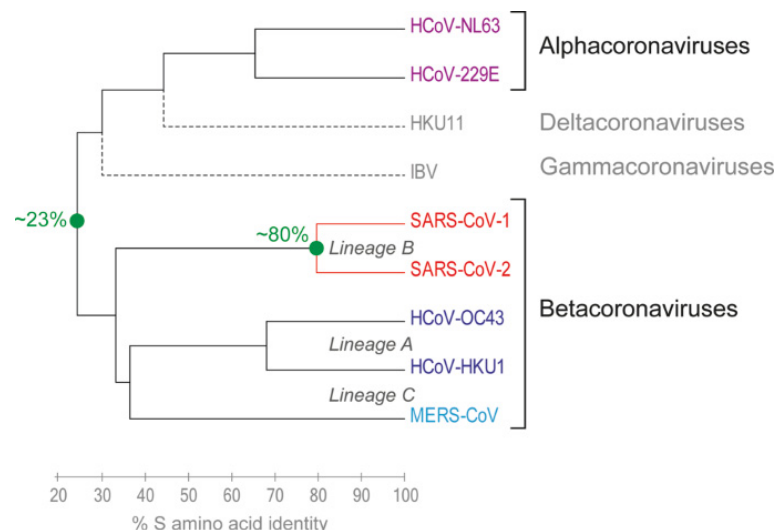
2.1 O SARS-COV-2

Os coronavírus foram inicialmente identificados em 1957, através da análise de pacientes com sintomas gripais em Londres, na Inglaterra (MARTIN, *et al.*, 2020). Neste intervalo, até o momento, foram identificados quatro subtipos de coronavírus

humanos sendo dois *Alfacoronavírus* (229E e NL63) e dois *Betacoronavírus* (OC43 e HKU1), que circulam sazonalmente e estão usualmente associados com infecções respiratórias altas (IRA), além de dois tipos de coronavírus zoonóticos (SARS-CoV-1 e MERS-CoV) associados com maior risco de evolução para síndrome respiratória aguda grave (SRAG) (FELÍCIO, *et al.*, 2020).

Os coronavírus são vírus RNA, e podem causar infecções respiratórias em humanos, além de aves, mamíferos e outros animais (LANA, *et al.*, 2020). O SARS-CoV-2 é o sétimo coronavírus identificado em infecções humanas e, juntamente com os outros, pertence à família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae* e ordem *Nidovirales*. Esta compreende quatro gêneros, *Alfacoronavírus*, *Betacoronavírus*, *Deltacoronavírus* e *Gamacoronavírus*, sendo os dois primeiros capazes de realizar infecção em seres humanos, e o restante a infecção em animais (Figura 2) (HEINZ e STIASNY, 2020; MARTIN, *et al.*, 2020). O nome SARS-CoV-2, do inglês *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*, evidencia a proximidade genética ao SARS-CoV-1, responsável pelo surto em 2003 (SIDDIQUI, ALHAMDI e ALGHAMDI, 2022).

FIGURA 2 - DENDROGRAMA DOS GÊNEROS E LINHAGENS DA FAMÍLIA *CORONAVIRIDAE*



Fonte: Heinz e Stiasny (2020).

Os quatro gêneros compartilham estruturas básicas, organizações genéticas e replicação similares. Apesar de infecções humanas, os alfas (NL63 e 229E) e beta (OC43, HKU1, MERS-CoV e SARS-CoV 1 e 2) coronavírus podem ter animais como reservatórios, dentre os já relatados estão os bovinos, suínos, perus, furões,

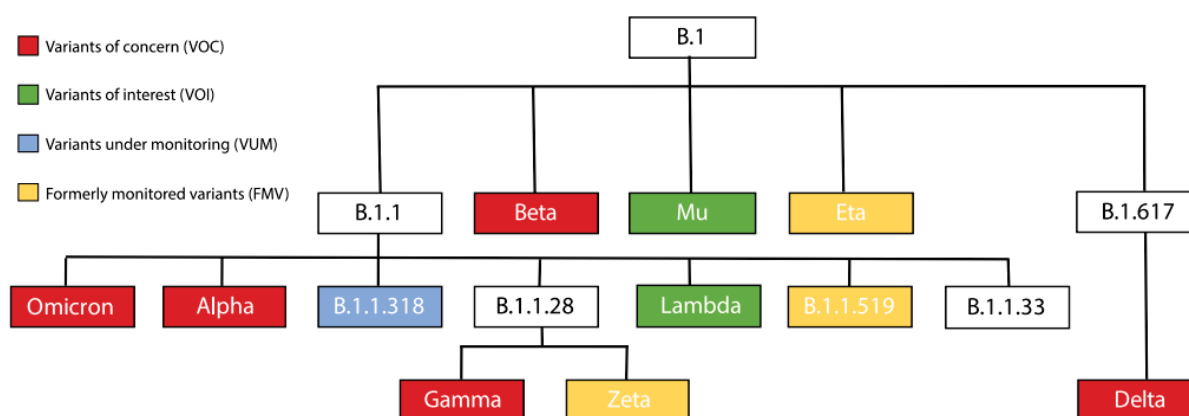
camelos, camundongos, morcegos e, mais recentemente, o pangolim. Além de serem reservatórios, a infecção em animais pode apresentar manifestações respiratórias e gastrointestinais, com grande impacto em indústrias, sobretudo pecuária (MARTIN, *et al.*, 2020).

Nos anos de 2003 e 2012 foram relatadas duas epidemias relacionadas a outros coronavírus zoonóticos, o SARS-CoV-1, que emergiu em Hong Kong (China) e MERS-CoV que emergiu na Arábia Saudita. Desde a observação destes episódios, a família dos coronavírus foi elencada como causador de infecções importantes e foram monitoradas para pesquisa em um contexto de emergência (LANA, *et al.*, 2020).

Seguindo uma tendência de evolução, novas variantes do SARS-CoV-2 foram identificadas ao longo da pandemia. O surgimento de variantes com alterações de escape imunológico, evoluções clínicas severas entre outras características, colaboraram para o aumento expansivo de casos de Covid-19. A emergência observada com a circulação de diferentes variantes levantou uma grande preocupação quanto ao desempenho das vacinas desenvolvidas frente a variantes que anteriormente não existiam ou eram desconhecidas. Visto isto, redes de monitoramento molecular para detecção de variantes, similares a redes de outros vírus respiratórios, foram desenvolvidas com o objetivo de informar as cepas circulantes e seu impacto clínico (OPAS, 2021).

As variantes são classificadas pela OMS entre variantes de interesse (VOI, do inglês, *Variants Of Interest*), variantes de preocupação (VOC, do inglês, *Variants Of Concern*), variantes em monitoramento (VUM, do inglês, *Variants Under Monitoring*) e variantes previamente monitoradas (FMV, do inglês, *Formerly Monitored Variants*). Uma vez estas tenham sido classificadas como VUM, mas em análises epidemiológicas e fenotípicas posteriores forem constatadas alterações genéticas que afetem o diagnóstico, escape imune, tratamento, transmissibilidade e gravidade da doença elas são reclassificadas como VOI. Se as alterações genéticas representarem aumento de transmissibilidade e virulência, alterações significantes em quadros clínicos e diminuição da efetividade frente a medidas públicas adotadas, serão reclassificadas como VOC (OMS, 2022). Até o final de fevereiro de 2022, 240 linhagens diferentes foram identificadas no Brasil. Destas, 11 foram classificadas de acordo com a OMS e suas linhagens foram descritas na Figura 3.

FIGURA 3 - DIAGRAMA DAS VARIANTES IDENTIFICADAS NO BRASIL E CLASSIFICAÇÃO DE ACORDO COM A ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE



Fonte: Alcantara, *et al.*, (2022).

2.1.1 Hospedeiros de origem

Os coronavírus são fortes exemplos de vírus que evoluíram da infecção de animais para infecção em humanos, como SARS-CoV-1 e MERS-CoV, observados em 2003 e 2012, respectivamente. A mesma condição é uma hipótese levantada para o SARS-CoV-2, visto que este pertencente ao mesmo ramo do SARS-CoV-1 e MERS-CoV, com os quais compartilha características genéticas, estruturais e patogênicas (GRAHAM, *et al.*, 2013; PERLMAN, 2020).

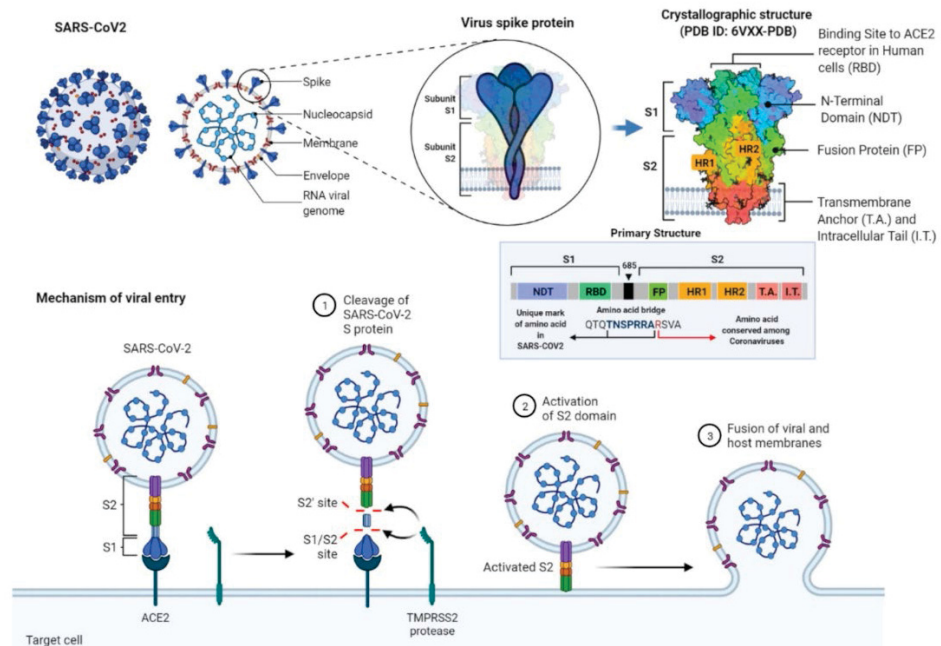
Hipóteses ainda não confirmadas discorrem que o SARS-CoV-2 provavelmente é proveniente de morcegos, que conhecidamente são infectados por outros coronavírus. Resultados indicam proximidade entre o causador da Covid-19 e o vírus batCov RatG13, o que corrobora para a hipótese de que o morcego possa ser um reservatório principal do SARS-CoV-2, visto que também são reservatórios ancestrais para SARS-CoV-1 e MERS-CoV. Além disso, os pangolins, mamíferos naturais da África e Ásia também são elencados como amplificadores ou reservatórios intermediários para este vírus, visto que os coronavírus que acometem esta espécie possuem grande semelhança da porção RBD com o SARS-CoV-2, ao contrário dos batCoV observado em morcegos. A hipótese é de que o vírus migrou deste reservatório intermediário para os homens por meio da constante exposição em mercados de animais vivos, promovendo adaptações que resultaram na cepa com potencial de transmissão inter-humana capaz de causar uma epidemia em humanos (DHAMA, *et al.*, 2020)

2.1.2 Estrutura viral e mecanismos de infecção celular

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA fita simples de orientação positiva (+ssRNA) que codifica 4 proteínas estruturais e 16 proteínas não estruturais. Sendo as proteínas estruturais denominadas envelope (E), membrana (M), nucleocapsídeo (N) e espícula (do inglês *spike* - S) (Figura 4), estas proteínas possuem um importante papel no reconhecimento de receptores celulares na célula alvo e fusão de membrana, processos que afetam diretamente a replicação viral (RENN, *et al.*, 2020). As proteínas não estruturais estão relacionadas a funções replicativas como a polimerização do RNA pela RNA polimerase dependente de RNA (RsRp, NSP12).

A proteína S possui grande importância no processo de entrada do vírus na célula e na resposta imune humoral, visto que é contra ela que inicialmente serão produzidos anticorpos para combater a infecção. Esta proteína é um trímero, composto por duas subunidades chamadas de porção S1, sendo esta a mais distante do envelope viral e S2 que está posicionada próxima ao envelope do vírus (JAMIU, *et al.*, 2021; PETROVSKI, *et al.*, 2022). A porção S1 possui uma região denominada RBD (domínio de ligação do receptor, do inglês, *Receptor Binding Domain*) que possui grande afinidade pelos receptores do tipo enzima conversora da antitensina tipo 2 (ECA2). Após a ligação da proteína com a ECA2, proteases como a serina proteinase 2 transmembrana (TMPRSS2) clivam a proteína S, expondo a região do peptídeo de fusão da porção S2, este peptídeo possui composição similar à membrana celular, deste modo, ele se incorpora à membrana celular permitindo a entrada do genoma viral no interior da célula (RENN, *et al.*, 2020; SIDDIQUI, ALHAMDI e ALGHAMDI, 2022).

FIGURA 4 - PROTEÍNAS ESTRUTURAIS DO SARS-COV-2 E MECANISMOS DE ENTRADA NA CÉLULA HOSPEDEIRA MEDIADA POR PROTEASES



Fonte: Petrovski, *et al.* (2022).

Quando proteases não estão presentes perto da interface de ligação entre a ECA2 e a proteína S, o vírus realizará a entrada na célula via endocitose. Através da fusão da vesícula endocítica com o endossoma celular, proteases existentes no interior do endossoma serão mediadoras da fusão das membranas virais e endossomais, liberando o material genético no interior da célula (V'KOVSKI, *et al.*, 2020). Uma vez que o RNA genético se encontra disponível no interior da célula hospedeira, o RNA é traduzido em duas *Open Reading Frames* (ORF) (ORF1a e ORF1b), que resultam em poli proteínas pp1a e pp1ab que são processadas em proteínas não estruturais (NSPs, do inglês *non-structural proteins*) que formam o complexo de replicação e transcrição viral. As proteínas estruturais traduzidas deslocam-se até o retículo endoplasmático (RE) e complexo de Golgi (CG), nas vesículas secretoras do CG há a união das proteínas estruturais e RNA genômico recém produzido, deste modo, os vírions recém produzidos são exocitados da célula infectada (HOFFMANN, *et al.*, 2020).

O SARS-CoV-2, durante o processo de infecção, adere-se à mucosa e liga-se aos pneumócitos do tipo 2 e células epiteliais brônquicas ciliadas do trato respiratório (JIN, *et al.*, 2020; SIDDIQUI, ALHAMDI e ALGHAMDI, 2022). O tropismo do SARS-CoV-2 pelos pneumócitos e células ciliadas relaciona-se com os sintomas

da doença, majoritariamente respiratórios. Entretanto, a presença do ECA2 em outras células como tecido cardíaco, renal e intestinal também contribui para outras manifestações clínicas relatadas (BRITO, *et al.* 2020).

Apesar de sua semelhança com outros coronavírus, o SARS-CoV-2 foi considerado como um novo betacoronavírus por características distintas como o fragmento N-terminal e uma nova proteína na banda ORF3 codificadas por ORF8. Variantes do SARS-CoV-2 possuem algumas alterações nestas novas características, indicando que estas proteínas acessórias não possuem papel essencial no processo de infecção (DHAMA, *et al.*, 2020).

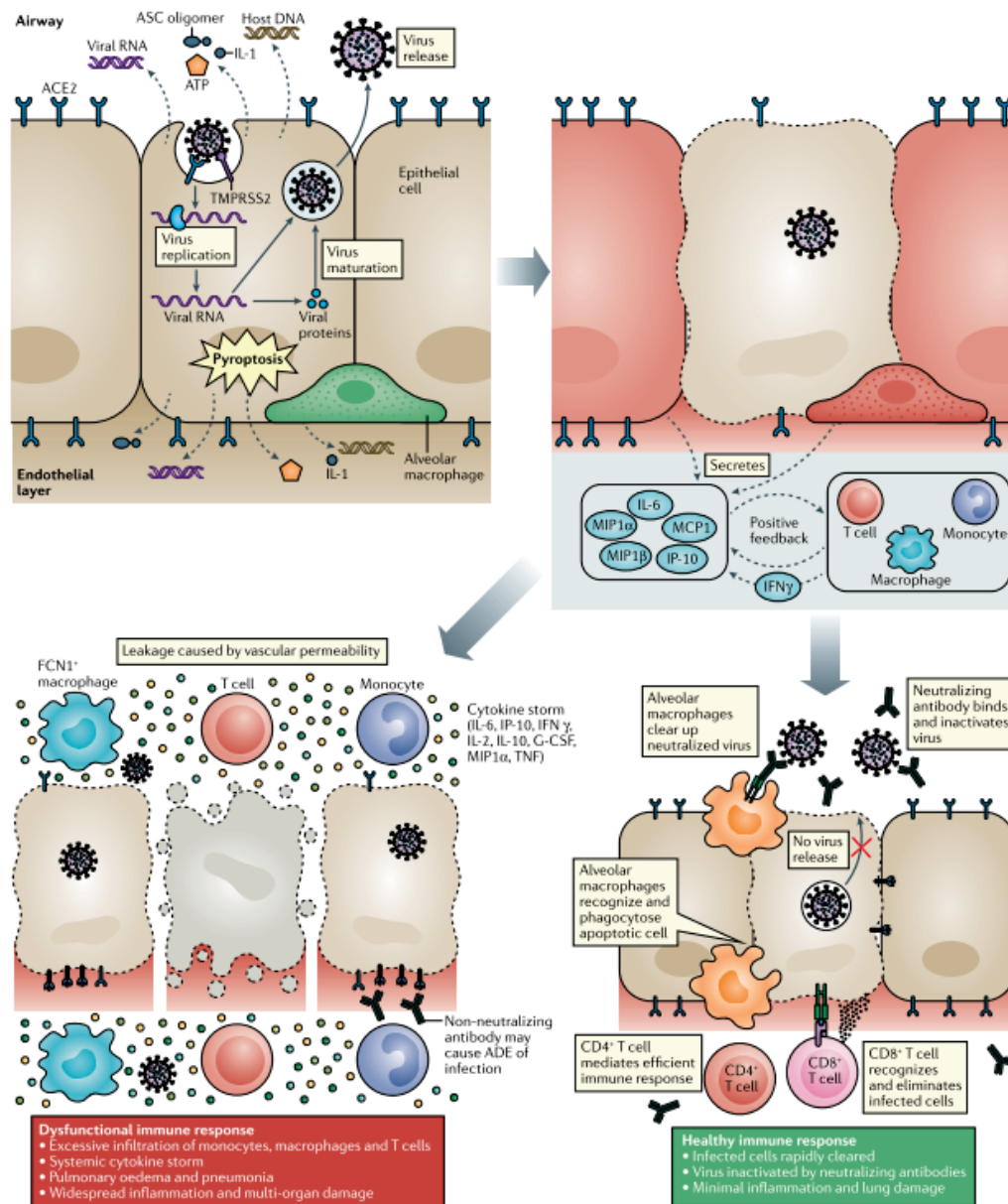
2.2 A COVID-19

2.2.1 Patogênese

A Covid-19 é a doença causada pelo SARS-CoV-2 e suas variantes, e a principal via de transmissão é através de gotículas respiratórias de pessoas contaminadas, que podem se depositar em superfícies ou realizar o contágio direto (BRITO, *et al.*, 2020; OMS, 2020). Além da infecção por gotículas, outras vias continuam a ser investigadas como a via fecal-oral, por transfusão sanguínea e transmissão vertical (TAY, *et al.*, 2020). Diversos mecanismos patogênicos têm sido mencionados para a Covid-19, como coagulopatia, disfunção endotelial, comprometimento do sistema cardiovascular, liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, entre outros (YU, *et al.*, 2021).

Durante o processo de replicação e liberação de vírions, a célula hospedeira inicia um processo de morte celular denominado piroptose, liberando conteúdos celulares como ATP e ácidos nucleicos. Estes componentes são então reconhecidos como padrões de molécula associadas ao dano (DAMPs, do inglês, *Damage-associated molecular pattern*) pelas células epiteliais, endoteliais e macrófagos que permeiam a célula hospedeira infectada, desencadeando a produção de citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, como a IL-6, IP-10, MCP1, entre outros. Estas recrutam monócitos, macrófagos e células T para o sítio de infecção, produzindo um cenário inflamatório, juntamente com a produção de IFN- γ pelas células T (Figura 5) (LANA, *et al.*, 2022; TAY, *et al.*, 2020).

FIGURA 5 - IMUNOFISIOPATOLOGIA DA COVID-19 APÓS ENTRADA DO VÍRUS NA CÉLULA E PROCESSO DE RESPOSTA INFLAMATÓRIA FUNCIONAL E DISFUNCIONAL



Fonte: Tay, *et al.*, (2020).

Em uma resposta imunológica exacerbada, o acúmulo de células imunes resulta numa superprodução de citocinas pró-inflamatórias, a chamada tempestade de citocinas (CS, do inglês, *Cytokine Storm*), que se encaminham a outros órgãos, resultando em lesões (YU, *et al.*, 2021). Concomitantemente, a produção de anticorpos não neutralizantes pelos linfócitos B propicia a resposta ADE (do inglês, *Antibody-Dependent Enhancement*), no qual a ligação dos anticorpos inespecíficos, sem a inativação viral, estimula o processo de entrada viral intracelular e a replicação viral com consequente produção de mediadores inflamatórios que levam

ao aumento da permeabilidade vascular (IKEWAKI, *et al.*, 2023). Além disso, células infectadas possuem capacidade reduzida de produção de interferons, os mediadores de resposta adequadas a infecções virais, e alta capacidade de produção de quimiocinas, recrutando neutrófilos e macrófagos. As lesões pulmonares, consequência de uma resposta inflamatória intensa e superpopulação de células imunes, que resultam em dano dos pneumócitos e células endoteliais capilares infectadas ocasionando hipoxemia e exsudato nos espaços alveolares e espessamento das paredes dos alvéolos. As lesões implicam nos sintomas respiratórios, como hipóxia, dispneia, coriza e tosse, entre outros (ZANZA, *et al.*, 2022).

Em oposição, em uma resposta imunológica competente, o processo inflamatório inicial recruta células T específicas para o sítio de infecção, eliminando as células infectadas antes que a infecção se expanda. Os anticorpos neutralizantes são recrutados e capazes de bloquear a infecção de novas células, macrófagos presentes no lúmen alveolar reconhecem os patógenos neutralizados e células apoptóticas e os eliminam por fagocitose, propiciando diminuição da lesão pulmonar e melhora clínica (TAY, *et al.*, 2020).

A infecção grave por SARS-CoV-2 acarreta a chamada Síndrome de Desconforto Respiratório, que se caracteriza por dificuldade respiratória e dessaturação de oxigênio, alguns pacientes podem progredir para infecção bacteriana secundária, levando à falência respiratória, responsável por 70% dos óbitos por Covid-19 (ZHANG, *et al.*, 2020). Estes fatores, somados à tempestade de citocinas, resposta da infecção primária ou secundária, correspondem à cerca de 28% dos casos de morte por Covid-19, visto que, esta resposta inflamatória agressiva acomete as vias aéreas, favorecendo a gravidade dos casos, corroborando para a hipótese de que a severidade da doença não está apenas relacionada à carga viral, mas também à resposta do hospedeiro frente à infecção (PIZZOL, *et al.*, 2020; ZHANG, *et al.*, 2020).

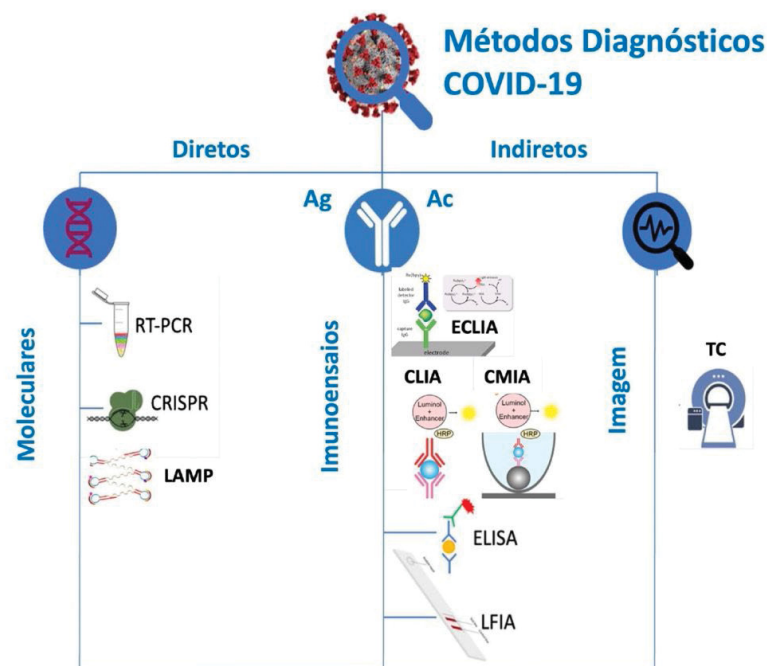
2.2.2 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico de Covid-19 é crucial para evitar a disseminação do vírus através do indivíduo contaminado, bem como no manejo da doença. O padrão ouro

para diagnóstico é a reação da transcriptase reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR), que através da amostra de esfregaço de nasofaringe coletadas com o auxílio de um *swab*, identifica sequências do genoma viral e consequente infecção pelo vírus SARS-CoV-2 (SHARMA, *et al.*, 2021). Entretanto, a complexidade da técnica, tempo do experimento e necessidade de pessoas especializadas, somadas à alta demanda do teste durante a pandemia, fomentou a necessidade de desenvolvimento de outras técnicas para diagnóstico da Covid-19.

O diagnóstico é atualmente seccionado em três vertentes, sendo de identificação direta, através de métodos moleculares ou detecção de antígenos, e métodos indiretos, através de detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 e achados clínicos combinados à padrões radiológicos ou de imagem (Figura 6).

FIGURA 6 - TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO DIRETOS E INDIRETOS UTILIZADAS NO INÍCIO DA PANDEMIA DA COVID-19



Fonte: Martinello (2021).

Um diagnóstico deve levar em consideração dias de sintomas da suposta infecção, história médica do paciente, sinais e sintomas clínicos. Estes dados podem guiar o médico durante a solicitação de qual o teste mais indicado para a identificação da infecção, isso porque, durante o período de incubação o número de

cópias de RNA do vírus pode não ser suficientes para identificação, bem como o título de anticorpos circulantes serem detectáveis, fazendo com que testes moleculares e sorológicos sejam inefetivos nos primeiros dias. Além disso, a escolha de matrizes biológicas também pode interferir na detecção do vírus ou anticorpos, conforme aplicável (Figura 7) (SETHURAMAN, *et al.*, 2020).

FIGURA 7 - EVOLUÇÃO TEMPORAL DOS MARCADORES VIRAIS E IMUNOLÓGICOS PARA DETECÇÃO DA INFECÇÃO DO SARS-COV-2

Fonte: Aita (2020).

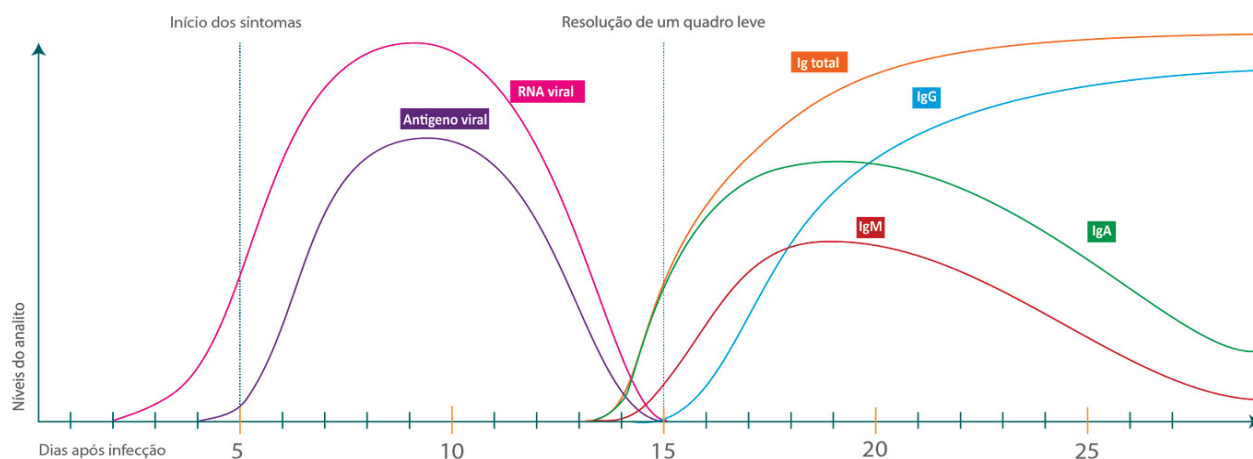


Gráfico meramente ilustrativo

detecção da infecção em estágio inicial (Figura 7) (HELMY, *et al.*, 2020).

Os testes de detecção de antígeno possuem a plataforma de ensaios de fluxo lateral (LFA, do inglês, *Lateral Flow Assays*) com reação do tipo sanduíche, e permitem a identificação de proteínas do antígeno viral, em sua maioria do nucleocapsídeo, sendo denominado como testes de diagnóstico rápido. Normalmente consistem em um cassete com poços para amostra e tampão, uma fita de matriz de nitrocelulose, com uma linha de teste com um anticorpo específico para complexos antígeno-anticorpo-alvo e uma linha de controle com um anticorpo específico para conjugados de anticorpos (OPAS, 2020). Apesar da sensibilidade e efetividade serem inferiores à um teste molecular, durante o período pandêmico foram uma estratégia de diagnóstico de infecções ativas pela fácil execução e praticidade de manuseio. Foram adotados em países ou áreas com extensa transmissão comunitária onde não é possível testagem dos casos suspeitos por técnicas moleculares (PORTE, *et al.*, 2020; OMS, 2020).

Os testes sorológicos como o ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática, do inglês, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) e o teste de imunocromatografia de fluxo lateral, popularmente conhecidos como teste rápido para Covid-19, possibilitam a detecção de anticorpos IgG e IgM simultaneamente. Embora possuam uma maior facilidade e necessidade de infraestrutura laboratorial menos complexa, os resultados são qualitativos e podem apenas indicar a presença ou ausência de anticorpos anti-SARS-CoV-2 (SETHURAMAN, *et al.*, 2020).

Um obstáculo durante o início do período pandêmico foi a interpretação equivocada dos testes sorológicos, uma vez que um resultado positivo para presença de anticorpos anti-SARS-CoV-2 era erroneamente interpretado como sinônimo de imunidade. Atualmente, sabe-se que apenas anticorpos ditos neutralizantes (nAb) são capazes de impedir o progresso da doença e são sinônimo de imunidade. A avaliação da presença e quantificação de nAb no soro dos pacientes representa uma estratégia chave para o rastreamento retrospectivo de contatos, investigação da taxa de infecção assintomática, avaliação da imunidade de rebanho e imunidade protetora humoral em pacientes recuperados e receptores de vacinas candidatas (PETHERICK, 2020; TAN, *et al.*, 2020). Além disso, os títulos de nAb podem prever a possibilidade de reinfecção em pacientes recuperados de uma infecção viral primária.

Para determinar a presença de anticorpos neutralizantes, o teste mais comumente realizado e considerado padrão ouro para tal finalidade, é o teste de neutralização por redução de placa (PRNT). Tendo em vista a expressiva quantidade de etapas que o PRNT demanda para sua execução e os consideráveis riscos de contaminação pela formação de aerossóis, algumas estratégias para redução de risco e escalonamento desta técnica foram desenvolvidas. Em 2018, em decorrência da emergência global para contenção do ZIKV, um grupo de pesquisadores propôs o chamado teste de neutralização de vírus (VNT) baseado na observação de efeito citopático (CPE), o qual não demanda a presença de reagentes tóxicos para o profissional e permite a análise da neutralização logo após o período de 72h de incubação, sem ser necessário fixar e tampouco, corar as placas. Além disso, o título de neutralização do vírus refere-se a VNT100 e é descrito como a maior diluição de soro que neutralizou o crescimento do vírus, ou seja, a leitura é baseada na presença ou ausência do CPE (NURTOP, *et al.*, 2020).

Posteriormente, o VNT foi adaptado por Almeida *et al.*, 2020, Tan *et al.*, 2020, Zhang *et al.*, 2020, para uso em casos de SARS-CoV-2, demonstrando que o VNT é tão específico e sensível quanto o PRNT, mas com o diferencial de ser mais fácil de ser executado, mais rápido e com um custo por experimento menor, além disso, o VNT é realizado em um formato de 96 poços, o que permite um rendimento bem maior em comparação ao PRNT (AMANAT, *et al.*, 2020).

2.2.3 Tratamento e Vacinação

Atualmente, o Brasil conta com 4 vacinas aprovadas pela ANVISA e, até o momento, apenas uma medicação antiviral contra a infecção do SARS-CoV-2 está disponibilizada na rede pública para tratamento, enquanto outro encontra-se disponível em rede particular perante receita médica (MACIEL, *et al.*, 2022).

Juntamente com as vacinas, medicamentos antivirais foram desenvolvidos para o tratamento de pacientes infectados com o SARS-CoV-2. Alguns exemplos são o Molnupiravir (Merck®, 2022) e Paxlovid (Pfizer®, 2022), que bloqueiam a infecção do vírus na célula hospedeira, diminuindo por exemplo a carga viral e tempos de sintomas em pacientes, sobretudo com comorbidades propensos a desenvolver uma forma mais grave da doença.

Dois antivirais foram aprovados pela ANVISA no mesmo ano, Remdesivir (Gilead Sciences, 2020) e Molnupiravir (MSD, 2020). O remdesivir, disponível em rede pública possui indicação restrita para adultos que não necessitem de oxigênio suplementar e que apresentem risco aumentado de progredir para caso grave, e adolescentes com pneumonia que necessitam de oxigênio suplementar, mas de forma não invasiva (MS, 2022). Enquanto o Molnupiravir, aprovado pela ANVISA para uso emergencial em 2022, possui indicação para pacientes não hospitalizados, com o objetivo de tratar pacientes leves e moderados prevenindo as chances de hospitalização e óbito. O medicamento possui ressalvas para gestantes e pessoas sem uso de contraceptivos eficazes, isso porque estudos de fase de segurança apontaram interferência no desenvolvimento fetal (OPAS, 2022). O Paxlovid, composto por comprimidos de nirmatrelvir e ritonavir embalados e administrados juntos, segue as mesmas orientações do Remdesivir e está aprovado como uso emergencial pela ANVISA desde 30 de março de 2022 (ANVISA, 2023).

Os anticorpos monoclonais também são uma abordagem adotada no manejo da doença, em 2022 o Tocilizumabe, anticorpo monoclonal inibidor do receptor de interleucina 6 (IL6) que reduz a resposta inflamatória em pacientes graves, foi adicionado pela OMS à lista de tratamentos pré-qualificados para o manejo de pacientes com doença grave (OMS, 2022). O Sotrovimabe (GlaxoSmithKline Manufacturing S.p.A, 2020) é um anticorpo monoclonal que se liga a um epítipo altamente conservado no domínio de ligação do receptor da proteína S do SARS-CoV-2 com alta afinidade (OPAS, 2022), não é indicado para pacientes hospitalizados ou que necessitem de oxigenoterapia.

As vacinas anti-SARS-CoV-2 são de suma importância para diminuição da mortalidade e, até o momento, quatro vacinas com plataformas tecnológicas distintas foram aprovadas. No Brasil, a primeira autorizada para uso emergencial pelos órgãos reguladores foi a CoronaVac® (Sinovac Life Sciences Co., Ltd. China), que possui plataforma de vírus inativado, tecnologia já aplicada em imunizantes usualmente disponíveis na rede pública. Nesta tecnologia, o vírus passa por um processo de lise viral seguido de purificação de seus antígenos que irá compor o imunogênico. A exposição do indivíduo às proteínas virais estimula a produção de anticorpos contra estes alvos, conferindo imunidade contra este patógeno (OMS, 2021).

O imunizante desenvolvido pela Universidade de Oxford em parceria com a Farmacêutica Aztra Zeneca (Reino Unido), nomeado ChAdOx1 ou *Covishield*, utiliza vetor viral de adenovírus de chimpanzé. Enquanto a vacina produzida pela Janssen, com o imunizante Ad26.COV2.S, (Johnson & Johnson, Bélgica) adota a mesma tecnologia, porém utilizando como vetor o Adenovírus humano não replicante (Ad26). Ambos os vetores possuem sequências para a produção da proteína S do SARS-CoV-2, deste modo, após a vacinação os vírus em questão produzem a proteína S para apresentação ao sistema imunológico e consequente produção de anticorpos (NETO, *et al.*, 2022).

Diferentemente das demais, a Comirnaty® (Pfizer-BioNTech, Estados Unidos) faz uso da biotecnologia de RNA mensageiro. Neste imunizante são contidas sequências de mRNA que assim que traduzidas expressam a proteína S que será reconhecida pelo sistema imune para produção de anticorpos (Tabela 1).

TABELA 1 - VACINAS APROVADAS NO BRASIL E TIPOS DE PLATAFORMAS TECNOLÓGICAS APLICADAS

Vacina	Tipo de plataforma tecnológica	Número de doses
Covishield/ ChAdOx1 – Oxford/ Astra Zeneca	Vetor Viral	2
Ad26.COV2.S - Janssen/ Johnson & Johnson	Vetor viral	1
Comirnaty™ – Pfizer/ BioNTech	RNA	2
CoronaVac® – Sinovac/ Instituto Butantan	Vírus inativado	2

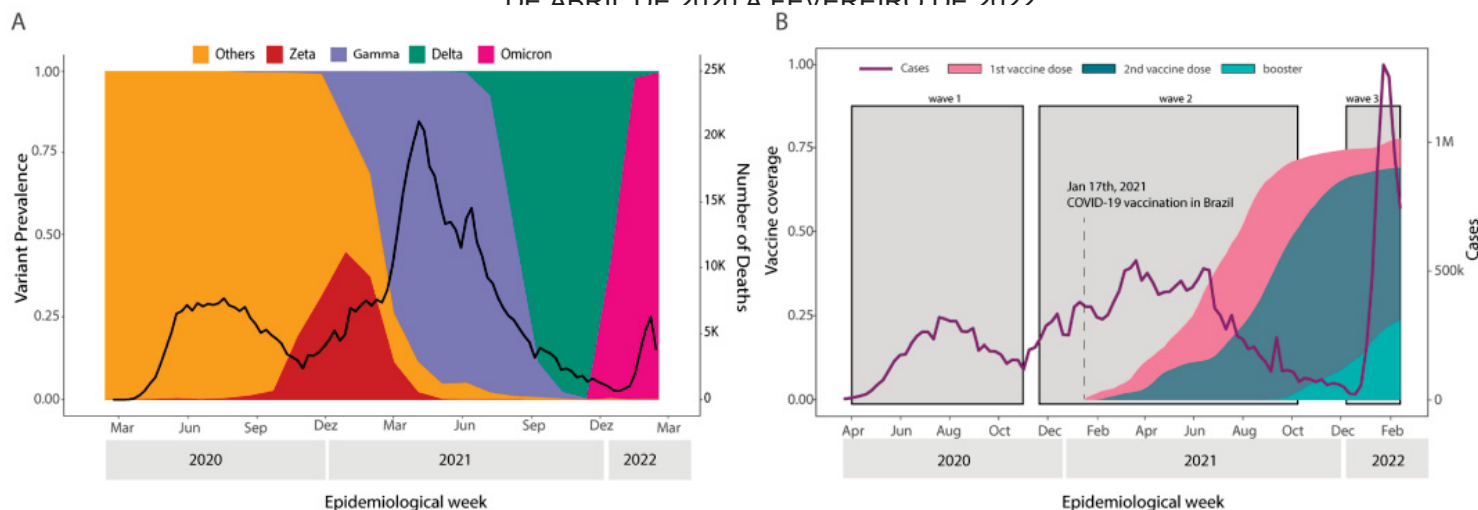
Fonte: O autor (2023).

Apesar dos esforços para o desenvolvimento de vacinas seguras e eficazes, um obstáculo importante a estas tem sido o surgimento das variantes virais. O SARS-CoV-2 apresenta grande capacidade de mutações e recombinações, deste modo, algumas sublinhagens do patógeno apresentam características evolutivas de escape imunológico, maior capacidade replicativa, maior patogenicidade, entre outros (PATEL, *et al.*, 2023).

A distribuição dos imunizantes no Brasil foi realizada por grupos prioritários seguido por faixa etária. Os desfechos relacionados foram redução do número de hospitalizações e mortalidade, mesmo em pacientes imunossuprimidos (NETO, *et al.*, 2022).

No Brasil, a pandemia tem se caracterizado por apresentar-se em ondas, que se caracterizam por um aumento no número de casos de forma temporal. Até o momento, foram identificadas três ondas distintas importantes no País. A primeira, ainda em 2020, com a identificação de múltiplas variantes que possuíam características similares. A segunda onda foi marcada pela detecção da variante Gama, em janeiro de 2021. Somente em abril do mesmo ano a variante Gama deu lugar à Delta, se tornando a variante dominante em outubro de 2021. De setembro a dezembro do mesmo ano, uma notória diminuição na frequência de casos e mortes por Covid-19 foi observado, as hipóteses são de que a imunidade conferida pelo contato com outras variantes anteriores como a Gama, juntamente com um amplo programa de vacinação (maior que 50% na época) levaram a diminuição dos números de casos observados (CAMPOS, *et al.*, 2022; ALCANTARA, *et al.*, 2022).

FIGURA 8 - DISTRIBUIÇÃO DAS VARIANTES E NÚMERO DE MORTES NOTIFICADAS NO BRASIL (A) E COBERTURA VACINAL NO BRASIL E NÚMERO DE CASOS DE INFECÇÃO (B) POR SEMANA EPIDEMIOLÓGICA DE ABRIL DE 2020 A FEVEREIRO DE 2022



Fonte: Alcantara, *et al.*, (2022).

A variante Ômicron, detectada no final de 2021 trouxe consigo o aumento de casos em todo o território brasileiro, cenário observado também ao redor do mundo. Classificada como uma VOC, esta variante tem capacidade de evadir a resposta imune e maior taxa de transmissibilidade quando comparada às variantes anteriores, apresentou uma queda no número de casos no início de 2022 (Figura 8B), refletindo o impacto vacinal ou imunidade prévia, porém sua alta capacidade de mutação, se apresentando em diferentes sublinhagens, contribuem para sua permanência ocasionando surtos por todo o mundo (VIANA, *et al.*, 2022).

A capacidade de proteção das vacinas é proveniente de características do sistema imunológico. Através de estruturas denominadas centros germinativos, presentes nos gânglios linfáticos, que estimulam linfócitos B a se desenvolverem e produzirem anticorpos específicos contra o antígeno, no caso a proteína ou segmento de RNA do SARS-CoV-2, e que podem ser reativados através da memória imunológica (NIH, 2023). Apesar da produção de anticorpos poder ocorrer mesmo anos após a estimulação da vacina, o grande obstáculo está na variabilidade genética do vírus. Visto que as primeiras vacinas anti-SARS-CoV-2 desenvolvidas foram formuladas para a cepa ancestral Wuhan, os anticorpos produzidos contra esta variante não seriam tão eficientes no combate à infecção e progressão da doença nos casos de variantes mais atuais. Para isto, doses de reforço,

denominadas *boosters*, são recomendadas para atualização e estimulação, permitindo assim a produção de anticorpos mais específicos à medida que o vírus evolui (ALSOUSSI, *et al.*, 2023).

3.0 MATERIAL E MÉTODOS

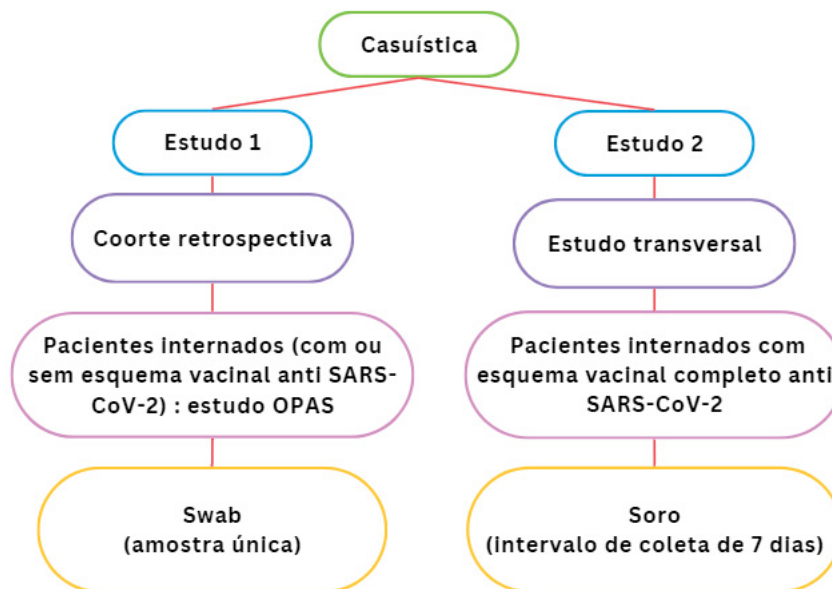
3.1 TIPO DE ESTUDO E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Estudo transversal, analítico e descritivo de uma coorte de pacientes hospitalizados, com Covid-19, previamente imunizados com vacina anti-SARS-CoV-2, comparado com pacientes não vacinados. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Institucional (CAAE: 53891121.0.0000.0096, Anexo I) e, por sua natureza retrospectiva, a assinatura do TCLE foi dispensada.

3.2 CASUÍSTICA

Para a realização deste trabalho os pacientes foram selecionados de acordo com a disponibilidade de amostras clínicas para os ensaios. Desta forma, o estudo foi realizado com dois grupos (Figura 9):

FIGURA 9 - CASUÍSTICA DOS ESTUDOS 1 E 2 REALIZADOS



Fonte: O autor (2023).

3.2.1 Casuística Estudo 1 – Coorte retrospectiva

Pacientes incluídos na pesquisa realizada pela Organização Pan-americana de Saúde (OPAS) e Fiocruz/RJ denominada como “Estudo de efetividade da vacina contra Covid-19: uma avaliação regional multicêntrica” (KAHN, *et al.*, 2023), em que foram avaliados pacientes hospitalizados com Covid-19 no período de agosto de 2021 a fevereiro de 2022, acima de 18 anos, que fossem considerados elegíveis para receberem a vacina anti-SARS-CoV-2, de acordo com as recomendações nacionais, e que apresentassem febre, tosse e ≥ 3 sintomas de Covid-19 e não tinham histórico de infecção por SARS-CoV-2 nos últimos 90 dias. Amostras de secreção respiratória/swab positivas para SARS-CoV-2 destes pacientes, quando disponíveis, estavam armazenadas no Laboratório de Virologia do CHC-UFPR. Deste grupo, foram excluídos pacientes que não possuíam dados clínicos disponíveis, que possuíam alguma contraindicação para receber a vacina anti-SARS-CoV-2 ou que possuíam quadro provável, mas não confirmado de Covid-19.

3.2.2 Casuística Estudo 2 – Estudo transversal

Pacientes maiores de 18 anos, hospitalizados com Covid-19, que receberam vacina anti-SARS-CoV-2 e que dispunham de amostras de soro para testes imunológicos. Para este grupo foram incluídos pacientes que preenchiam os critérios de inclusão no período de agosto de 2021 a fevereiro de 2022. Foram excluídos pacientes que não possuíam amostras sobressalentes de exames, que ficaram menos de uma semana hospitalizados ou que possuíam quadro provável, mas não confirmado de Covid-19.

Em ambos os estudos (Estudo 1 e Estudo 2) foi realizado levantamento de dados clínicos e histórico vacinal, este foi realizado por meio de revisão dos prontuários médicos do CHC-UFPR e dos sistemas de informação municipais e federal sobre os dados vacinais.

As amostras de soro e de secreção respiratória eram alíquotas sobressalentes das amostras da rotina do Laboratório de Imunoquímica e Virologia do CHC-UFPR. As alíquotas foram manipuladas apenas após a realização de todos os exames solicitados, não houve intervenção no tratamento ou atendimento do paciente no hospital. Portanto, os pacientes não foram submetidos a novas coletas de amostras clínicas, e a obtenção da matriz biológica não causou nenhuma interferência no tratamento dos pacientes.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Métodos Estudo 1 – Coorte retrospectiva

Os dados clínicos, epidemiológicos, vacinais e de desfecho foram coletados retroativamente por meio de revisão dos prontuários eletrônicos (AGHU) do sistema de informática do CHC-UFPR e das fichas de notificação de casos de Covid-19 do mesmo hospital. Estes dados foram coletados seguindo o protocolo do estudo multicêntrico, o Quadro 1 lista os dados a coletados para cada indivíduo inserido neste estudo.

QUADRO 1 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS E DE DESFECHO COLETADOS RETROATIVAMENTE PARA O ESTUDO 1

Epidemiológicos	Clínicos	Desfecho
Registro sistema interno	Sinais Vitais	Óbito
Nome	Sintomas de admissão	Alta hospitalar
Cidade de residência	Admissão em UTI	Classificação OMS*
Data de internamento	Resultados laboratoriais	Classificação NIH**
Dados vacinais	Suplementação de oxigênio	
Data início de sintomas	Alteração de imagens	

* Métrica de gravidade da Covid-19 de acordo com a OMS: 0= não infectado, 1= assintomático + RNA detectado, 2= sintomático independente, 3= sintomático que necessita de assistência, 4= hospitalizado sem oxigenoterapia, 5= hospitalizado com uso de oxigênio por máscaras ou prongas nasais, 6= hospitalizado com uso de oxigênio por NIV ou alto fluxo, 7= intubação e ventilação mecânica $pO_2/FiO_2 \geq 150$ ou $SpO_2 \geq 200$, 8= ventilação mecânica com $pO_2/FiO_2 < 150$ ($SpO_2 < 200$) ou vasopressores, 9= ventilação mecânica com $pO_2/FiO_2 < 150$ e vasopressores, diálise ou ECMO, 10= óbito

** Métrica de gravidade da Covid-19 de acordo com o NIH: Leve = indivíduos que apresentam qualquer um dos vários sinais e sintomas de Covid-19, mas que não apresentam falta de ar, dispneia ou imagens anormais do tórax. Moderado = indivíduos que apresentam evidências de doença do trato respiratório inferior durante a avaliação clínica ou de imagem e que apresentem saturação de oxigênio ($SpO_2 \geq 94\%$ no ambiente ao nível do mar. Grave = indivíduos que têm $SpO_2 < 94\%$ em ar ambiente, $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg, frequência respiratória > 30 respirações/min, ou infiltrado pulmonar $> 50\%$. Crítico = indivíduos que apresentam insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção de múltiplos órgãos)

Fonte: O autor (2023).

As amostras de *swab*/ secreção respiratória foram amostras únicas, obtidas por meio da busca ativa pelo sistema eletrônico do CHC-UFPR, identificação das amostras no Laboratório de Virologia e separação de uma alíquota apenas após o

uso para os exames solicitados. Após identificação, as amostras foram encaminhadas ao Laboratório de Virus Respiratórios e do Sarampo (LVRS), do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, para caracterização do vírus através do sequenciamento nucleotídico do genoma completo. As sequências foram depositadas no GISAID e os links de identificação estão descritos no Anexo 2.

Os dados de sequenciamento nucleotídico foram utilizados para construção de uma árvore filogenética e suas sequências foram comparadas às sequências de referência publicamente postadas no site do GISAID, Iniciativa Global de Compartilhamento de Todos os Dados da Influenza (do inglês, *Global Initiative on Sharing All Influenza Data*, disponível em: <https://gisaid.org/>). As sequências foram alinhadas utilizando o programa MAFT e editadas para remoção de possíveis artefatos (deleções, *gaps* e inserções) através do AliView (V.1.28). A máxima verossimilhança (MV) foi estimada utilizando o programa IQ-TREE (V.2.2.2.6) e a árvore filogenética foi editada utilizando o programa FigTree (V.1.4.3).

Todos os dados foram compilados em planilhas digitais e tiveram seus valores transcritos em documento fonte para armazenamento reserva. Os pacientes foram seccionados baseado em seus status de vacinação, sendo estes: vacinados e não vacinados, vacinados com esquema completo e parcialmente vacinados e, por fim, que receberam vacina em tempo oportuno (≥ 14 dias antes da infecção por SARS-CoV-2) e vacinados sem tempo oportuno de imunização (< 14 dias antes da infecção por SARS-CoV-2).

Os dados foram computados e analisados por meio de um software estatístico R Core Team statistical software, V.4.2.1 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2014). Foram analisadas frequências relativas e absolutas e aplicados teste exato de Fisher, χ^2 , teste de Mann Whitney e teste de Gray, conforme apropriado. Análises multivariadas considerando como desfecho ser ou não vacinado, vacina completa ou incompleta e vacinação oportuna ou não foram realizadas para os resultados das análises bivariadas que apresentaram valor $p < 0,05$. Todos os valores de p são baseados em comparações bicaudais e o nível de significância foi estabelecido em $p < 0,05$.

3.3.2 Métodos Estudo 2 – Estudo transversal

Para este grupo, os pacientes foram selecionados de acordo com a disposição das amostras de soro. Estas foram separadas com intervalo de 7 dias, até o desfecho final da internação dos pacientes, conforme disponibilidade. Dados clínicos foram adquiridos retroativamente seguindo os mesmos padrões do grupo 1, via sistemas locais de dados.

As amostras de soro foram identificadas e enviadas para o Laboratório de Virologia Clínica e Molecular do Instituto Butantan – São Paulo onde foi realizado o Teste Convencional de Neutralização de Vírus (do inglês, *conventional Virus neutralization test* – cVNT) uma vez que o local conta com laboratório de segurança biológica nível 3 (NB3) para este procedimento, além de equipe capaz de fornecer a assistência necessária para a técnica. Para o cVNT, as amostras foram testadas para quatro variantes, sendo estas: Wuhan (ancestral), Delta, Gama e Ômicron.

O cVNT é um teste que possibilita a determinação da capacidade neutralizante dos anticorpos para prevenir a infecção pelo vírus *in vitro*, por meio do isolamento viral e cultura celular, além da possibilidade de análise dos padrões de citopáticos causados por este por meio de um microscópio e software específico. Para este estudo, cada amostra foi submetida a quatro variantes diferentes de interesse, Wuhan (ancestral: SARS-CoV-2/human/BRA/SP02/2020; MT126808.1), Delta, Gama (SARS-CoV-2 [cepa IMT 87201]), e Ômicron e seus resultados de quantificação de nAb e efeitos celulares foram analisados em conjunto com os dados clínicos e dosagens de anticorpos IgA e IgG. Além disso o cVNT possui vantagens como a suspensão do uso de carboximetil celulose, um fixador celular que necessita da inversão da placa de células o que aumenta as chances de produção de aerossol, diminuindo as chances de contaminação das amostras e manipuladores, e a possibilidade de uso de partículas virais pseudotipadas marcadas com luciferases e que expressam proteínas virais ao invés do vírus (ALVES, *et al.*, 2021).

A primeira amostra coletada de cada paciente ao ser hospitalizado foi encaminhada ao Laboratório de Pesquisa em Biologia Molecular/ Microbiologia da UFPR para a detecção e quantificação de anticorpos IgG e IgA anti-SARS-CoV-2, e à Universidade Federal do Ceará (UFC), em parceria com a Prof^a Dra Juliana Ueda, para dosagem de 20 citocinas inflamatórias, listadas na tabela abaixo, através da plataforma Luminex® (Thermo Fisher Scientific) (Quadro 2).

QUADRO 2 - CITOCINAS TESTADAS NO SORO DOS PACIENTES DO ESTUDO 2

Citocinas			
GM-CSF	IL-6	IL-17 ^a	IL-23
IFN-alfa	IL-12p70	IL-21	IL-27
IL-2	IL-10	IL-13	MCP-1
IL-4	IL-9	IL-18	IL-1B
IFN-gama	IL-5	IL-22	TNF-alfa

Metodologia utilizada: *Luminex® Platform Technology*

Fonte: O autor (2024).

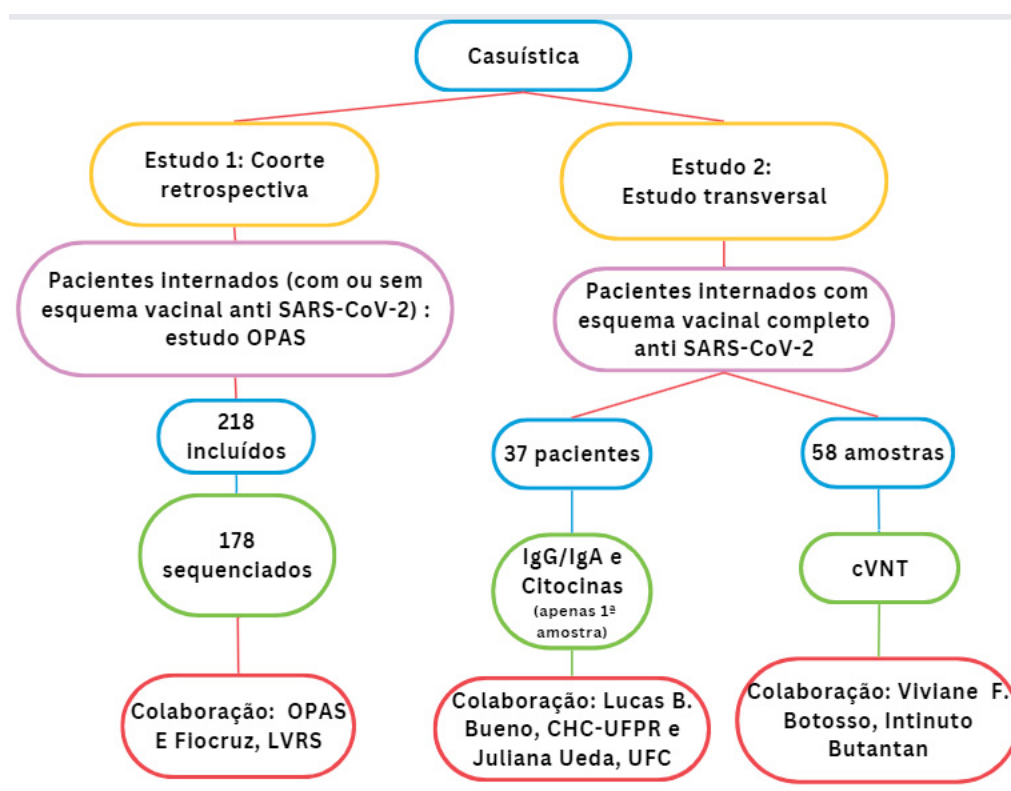
Os dados de expressão de citocinas foram comparados a um grupo de pacientes com Covid-19, não vacinados e internados no mesmo complexo durante o mesmo período do estudo. Este grupo foi previamente descrito por Bochnia-Bueno *et al.*, (2023).

Todos os dados foram compilados em planilhas digitais e tiveram seus valores transcritos em documento fonte para armazenamento reserva. Os dados foram computados e analisados por meio de um software estatístico GraphPad Prism V9.5.1 (GraphPad Software, 1992-2023, Boston, United States). Foram analisadas frequências relativas e absolutas e aplicados o teste exato de Fisher, x2, teste de Mann Whitney e teste de Gray, conforme apropriado. Todos os valores de p são baseados em comparações bicaudais e o nível de significância foi estabelecido em $p<0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O fluxograma apresentado na Figura 10 resume o resultado do número de pacientes incluídos nos estudos, bem como o número de amostras submetidas às análises laboratoriais e clínico/epidemiológicas.

FIGURA 10 - FLUXOGRAMA DOS PACIENTES INCLUÍDOS NOS GRUPOS DOS ESTUDOS 1 E 2 E EXAMES REALIZADOS PARA CADA ESTUDO



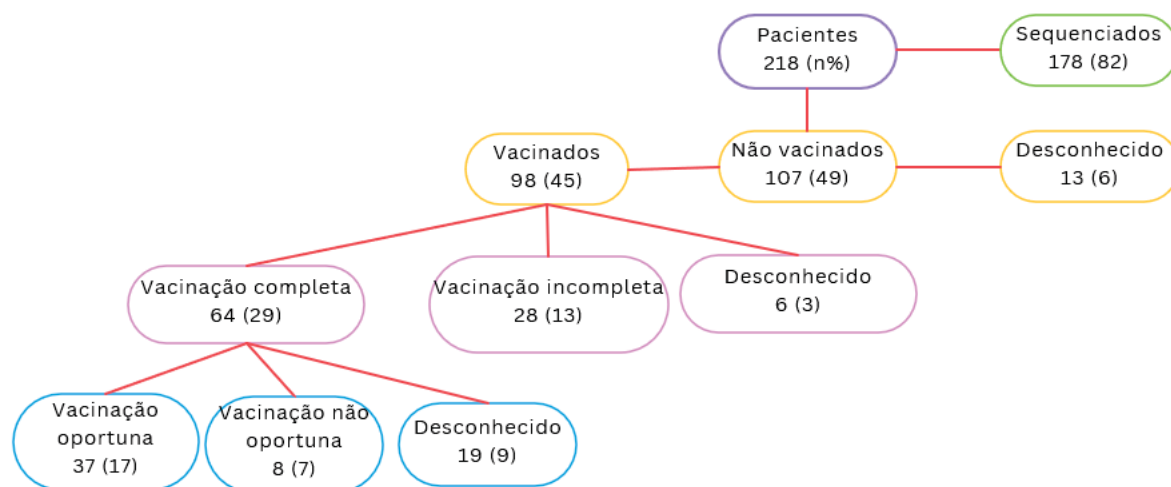
Fonte: O autor (2023).

Visto que cada grupo foi submetido à testes e análises diferentes, os resultados serão discutidos separadamente.

4.1 RESULTADOS ESTUDO 1 – COORTE RETROSPECTIVA

Foram incluídos 218 pacientes no estudo e divididos de acordo com o grupo vacinal (Figura 11).

FIGURA 11 – DISTRIBUIÇÃO DOS 218 PACIENTES INCLUÍDOS NO ESTUDO 1 DE ACORDO COM O GRUPO VACINAL



Os dados clínicos e epidemiológicos foram analisados de acordo com o grupo vacinal: vacinados e não vacinados (Tabela 2), vacinação completa e incompleta (Tabela 3) e vacinação oportuna e não oportuna (Tabela 4).

TABELA 2 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES VACINADOS E NÃO VACINADOS

	Vacinados	Não vacinados	Valor de p	
	98	107	Análise não ajustada	Análise ajustada
Sexo				
Feminino	46 (47)	49 (46)	0,9809	
Masculino	52 (53)	58 (54)		
Idade				
Mediana (quartil, quartil)	70 (58, 78)	53 (40, 66)	< 0,001	0
Tabagismo				
Fumante	13 (13)	6 (6)	0,3519	
Fumante passado	24 (24)	24 (22)		
Nunca fumaram	29 (29)	28 (26)		
Escolaridade				
Analfabeto	5 (5)	1 (0.9)	0,2712	
Escola primária	43 (44)	47 (44)		
Ensino médio	15 (15)	23 (21)		
Graduação	4 (4)	4 (4)		
Sintomas na admissão				
Febre	38 (39)	40 (37)	0,0989	
Tosse	57 (58)	55 (51)	0,5079	
Fraqueza/ fadiga	40 (41)	30 (28)	1	
Dor de cabeça	17 (17)	13 (12)	1	
Mialgia	28 (28)	23 (21)	1	
Dor de garganta	8 (8)	11 (10)	0,6891	
Nariz escorrendo	7 (7)	8 (7)	0,5032	
Aosmia e Agueia	12 (12)	10 (9)	0,717	
Dispneia	69 (70)	74 (69)	0,7226	
Anorexia / náusea / vômito	28 (28)	23 (21)	0,7422	

Diarréia	11 (11)	12 (11)	0,246	
Estado mental alterado	21 (21)	25 (23)	0,77	
Doses da vacina				
Dose 1	31 (32)	.		
Dose 2	50 (51)	.		
Booster	5 (5)	.		
Esquema concluído	64 (65)	.		
Vacinação oportuna	37 (38)	.		
Tipo de vacina				
CoronaVac (Sinovac®)	59 (60)	.		
Comirnaty (Pfizer®)	9 (9)	.		
ChAdOx1 (Astrazeneca®)	27 (27)	.		
Ad26.COV2.S (Janssen®)	1 (1)	.		
Dados de teste				
Dias de sintomas no dia dos testes	3 (1,5)	4 (2, 7)	0,0433	
Amostras sequenciadas	76 (77)	90 (84)	2.857	
Gama	40 (41)	75 (70)		
Delta	36 (37)	1 (0.9)		
Zeta	0	11 (10)		
Alfa	0	3 (3)	< 0,001	
Dados de admissão				
Dias de sintomas na admissão	6 (2, 8)	7 (3, 8.25)	0,4143	
Imagens torácicas anormais	84 (86)	97 (91)	0,1792	
SPO2 <94%	97 (99)	106 (99)	1	
Taquipnea (RF> 30)	46 (47)	43 (40)	0,886	
Infiltrados pulmonares> 50%	30 (31)	37 (34)	0,6556	
Uso de drogas vasoativas	40 (41)	45 (42)	1	
Díálise	13 (13)	17 (16)	0,7198	
UTI	58 (59)	63 (59)	1	
Necessidade de suporte respiratório	94 (96)	107 (100)	1	
Ventilação espontânea	55 (56)	46 (43)		
Ventilação assistida	39 (40)	56 (52)	0,08	
Dias de internação	10 (6, 15)	13 (20, 26)	0,0242	
Dias de UTI	7,5 (4, 12)	12 (5, 17)	0,07	
Comorbidades				
Doenças cardiovasculares	67 (68)	61 (57)	0,1253	
Doenças neurológicas	17 (17)	14 (13)	0,5302	
Doenças pulmonares	24 (24)	19 (18)	0,3286	
Doenças gastrointestinais	7 (7)	7 (6)	1	
Doenças endócrinas	46 (47)	37 (34)	0,1084	
Doença renal	14 (14)	9 (8)	0,2775	
Doenças hematológicas	11 (11)	6 (6)	0,2368	
Malignidades	15 (15)	5 (5)	0,02114	0,075
Imunodeficiência	10 (10)	14 (13)	0,6543	
Tratamento psiquiátrico	6 (6)	11 (10)	0,3981	
Outras doenças infecciosas	4 (4)	0		
Obesidade	34 (35)	26 (24)	0,92	
Desfecho				
Óbito	44 (45)	40 (37)		
Alta	54 (55)	66 (61)	3.418	

Em negrito: valores estatisticamente significativos

Fonte: O autor (2023).

Dentre os pacientes do grupo de vacinados e não vacinados, as variáveis de idade, VOCs e malignidades como comorbidade foram apresentaram diferença estatisticamente significativa, sendo que no grupo de vacinados se encontravam os pacientes mais idosos e com maior frequência de malignidades. Entretanto, a significância não se manteve para malignidades e variantes. Destaca-se que pessoas de maior idade teriam maior chance de serem vacinados. Este achado reflete o cenário brasileiro de vacinação, isso porque, a vacinação no País foi iniciada em janeiro de 2021 e seguiu uma lista de grupos prioritários para realizarem a vacinação. Os idosos, por apresentarem condições fisiológicas da idade como a imunossenescência, somados à maior prevalência de comorbidades elencam esta faixa etária como o grupo de risco, com maiores chances de óbito, e por este motivo foram o grupo prioritário para oferta de vacina anti-SARS-CoV-2, juntamente com profissionais da saúde, que possuíam maior risco de infecção devido à exposição mais frequente. (CERQUEIRA-SILVA, *et al.*, 2021; KAHN, *et al.*, 2023). Da mesma forma, a presença de malignidades foi mais frequente em idosos, possivelmente por ser um diagnóstico relativamente mais comum nesta faixa etária, podendo ter sido uma variável de confusão, uma vez que na análise multivariada não se observou a persistência desta diferença.

TABELA 3 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES COM VACINAÇÃO COMPLETA E INCOMPLETA

	Vacinação completa 64	Vacinação incompleta 28	Valor de p	
			Análise não ajustada	Análise ajustada
Sexo				
Feminino	32 (50)	12 (43)	0,686	
Masculino	32 (50)	16 (57)		
Idade				
Mediana (quartil, quartil)	74 (67, 79)	63 (52, 72)	0,0056	0,004
Tabagismo				
Fumante	8 (12)	3 (11)	0,8514	
Fumante passado	19 (30)	5 (18)		
Nunca fumaram	22 (34)	6 (21)		
Escolaridade				
Analfabeto	2 (3)	3 (11)	0,6692	
Escola primária	26 (41)	15 (53)		
Ensino médio	10 (16)	4 (14)		
Graduação	3 (5)	1(3)		
Sintomas na admissão				
Febre	26 (41)	8 (28)	0,8396	1
Tosse	38 (59)	15 (53)		

Fraqueza/ fadiga	26 (41)	11 (39)	1	
Dor de cabeça	13 (20)	2 (7)	0,5304	
Mialgia	19 (30)	7 (25)	1	
Dor de garganta	6 (9)	2 (7)	0,4872	
Coriza	5 (8)	1(3)	1	
Aosmia e Agueia	9 (14)	0	0,4706	
Dispneia	9 (14)	25 (90)	0,08766	
Anorexia / náusea / vômito	9 (14)	4 (14)	0,5843	
Diarréia	9 (14)	2 (7)	1	
Estado mental alterado	9 (14)	9 (32)	0,09946	
Tipo de vacina				
CoronaVac (Sinovac®)	47 (73)	9 (32)		
Comirnaty (Pfizer®)	3 (5)	6 (21)		
ChAdOx1 (Astrazeneca®)	11 (17)	13 (46)		<0,001
Ad26.COV2.S (Janssen®)	1 (1)	0		
Dados de teste				
Dias de sintomas no dia do teste	3 (1, 5)	3 (1,7; 5)	0,6811	
Amostras sequenciadas	51 (80)	21 (75)	0,5963	
Gama	19 (30)	20 (71)		
Delta	32 (50)	1(3)		<0,001
Zeta	0	0		
Alfa	0	0		
Dados de admissão				
Dias de sintomas na admissão	6 (2, 8)	5 (2, 8)	0,8732	
Imagens torácicas anormais	52 (81)	27 (96)	0,09967	
SPO2 <94%	63 (98)	28 (100)	1	
Taquipneia (RF> 30)	28 (44)	16 (57)	0,1169	
Infiltrados pulmonares> 50%	15 (23)	14 (50)	0,02913	
Uso de drogas vasoativas	20 (31)	18 (62)	0,0075	
Díalise	6 (9)	6 (21)	0,2249	
UTI	34 (53)	22 (78)	0,03854	
Necessidade de suporte respiratório	60 (94)	28 (100)	0,3098	
Ventilação espontânea	42 (66)	9 (32)	0,0018	
Ventilação assistida	18 (28)	19 (68)		
Dias de internação	9 (5, 14)	11 (7, 18)	0,2876	
Dias de UTI	9 (4, 10)	12 (5, 16)	0,5139	
Comorbidades				
Doenças cardiovasculares	45 (70)	19 (68)	1	
Doenças neurológicas	10 (16)	7 (25)	0,4388	
Doenças pulmonares	16 (25)	6 (21)	0,9172	
Doenças gastrointestinais	4 (6)	3 (11)	0,4312	
Doenças endócrinas	30 (47)	13 (46)	1	
Doença renal	10 (16)	3 (11)	0,7474	
Doenças hematológicas	6 (9)	4 (14)	0,4857	
Malignidades	11 (17)	4 (14)	1	
Imunodeficiência	6 (9)	2 (7)	1	
Tratamento psiquiátrico	5 (8)	1(3)	0,6632	
Outras doenças infecciosas	3 (5)	0		
Obesidade	23 (36)	7 (25)	0,3175	
Desfecho				
Óbito	23 (36)	19 (68)	0,0093	0,001
Alta	41 (64)	9 (32)		

Em negrito: valores estatisticamente significativos

Fonte: O autor (2023).

TABELA 4 - DADOS CLÍNICOS, EPIDEMIOLÓGICOS COMPARANDO OS PACIENTES COM VACINAÇÃO OPORTUNA E NÃO OPORTUNA

	Vacinação oportuna 37	Vacinação não oportuna 8	Valor de p	
			Análise não ajustada	Análise ajustada
Sexo				
Feminino	14 (38)	5(62)		
Masculino	23 (62)	3 (38)	0,2528	
Idade				
Mediana (quartil, quartil)	74 (67, 79)	66 (57, 72)	0,2651	
Tabagismo				
Fumante	3 (8)	3 (38)		
Fumante passado	13 (35)	1 (12)		
Nunca fumaram	11 (30)	3 (38)	0,08966	
Escolaridade				
Analfabeto	2 (5)	0		
Escola primária	19 (51)	3 (38)		
Ensino médio	4 (11)	2 (25)		
Graduação	2 (5)	0	0,6513	
Sintomas na admissão				
Febre	18 (47)	3 (38)	0,5968	
Tosse	25 (67)	6 (75)	0,2179	
Fraqueza/ fadiga	17 (46)	2 (25)	1	
Dor de cabeça	3 (8)	2 (25)	1	
Mialgia	12 (32)	2 (25)	1	
Dor de garganta	2 (5)	1 (12)	0,4286	
Coriza	4 (11)	0	0,4909	
Aosmia e Agueia	3 (8)	1 (12)	1	
Dispneia	23 (62)	6 (75)	0,5585	
Anorexia / náusea / vômito	11 (30)	2 (25)	1	
Diarréia	5 (13)	1 (12)	1	
Estado mental alterado	5 (13)	2 (25)	0,2902	
Tipo de vacina				
CoronaVac (Sinovac®)	30 (81)	4 (50)		
Comirnaty (Pfizer®)	0	1 (12)		
ChAdOx1 (Astrazeneca®)	7 (19)	2 (25)		
Ad26.COV2.S (Janssen®)	0	1 (12)	0,02807	
Dados de teste				
Dias de sintomas no dia do teste	2 (1, 4)	3 (0,75, 5)	0,2326	
Amostras sequenciadas	28 (76)	6 (75)	1	
Gama	9 (24)	3 (38)		
Delta	19 (51)	3 (38)		
Zeta	0	0		
Alfa	0	0	0,641	
Dados de admissão				
Dias de sintomas na admissão	6 (3, 8)	3 (0,75; 6)	0,2326	
Imagens torácicas anormais	29 (78)	5 (62)	0,3823	
SPO2 <94%	36 (97)	8 (100)	1	
Taquipnea (RF> 30)	18 (49)	4 (50)	0,6726	

Infiltrados pulmonares>50%	9 (24)	1 (12)	0,6585
Uso de drogas vasoativas	13 (35)	3 (38)	1
Diálise	4 (11)	1 (12)	1
UTI	23 (62)	4 (50)	0,6944
Necessidade de suporte respiratório	34 (91)	7 (87)	0,5567
Ventilação espontânea	22 (59)	5(62)	
Ventilação assistida	12 (32)	2 (25)	1
Dias de internação	12 (6, 15)	8,5 (6,5; 11)	0,334
Dias de UTI	8 (4, 11)	7 (6,5; 9)	0,9181
Comorbidades	32 (86)	6 (75)	
Doenças cardiovasculares	25 (67)	6 (75)	1
Doenças neurológicas	7 (19)	0	0,3212
Doenças pulmonares	9 (24)	3 (38)	0,6609
Doenças gastrointestinais	2 (5)	0	1
Doenças endócrinas	14 (38)	5(62)	0,2528
Doença renal	5 (13)	2 (25)	0,5902
Doenças hematológicas	4 (11)	0	1
Malignidades	3 (8)	1 (12)	0,5567
Imunodeficiência	3 (8)	1 (12)	0,5567
Tratamento psiquiátrico	0	0	1
Outras doenças infecciosas	2 (5)	0	
Obesidade	13 (35)	4 (50)	0,1672
Desfecho			
Óbito	14 (38)	3 (38)	1
	23 (62)	5(62)	

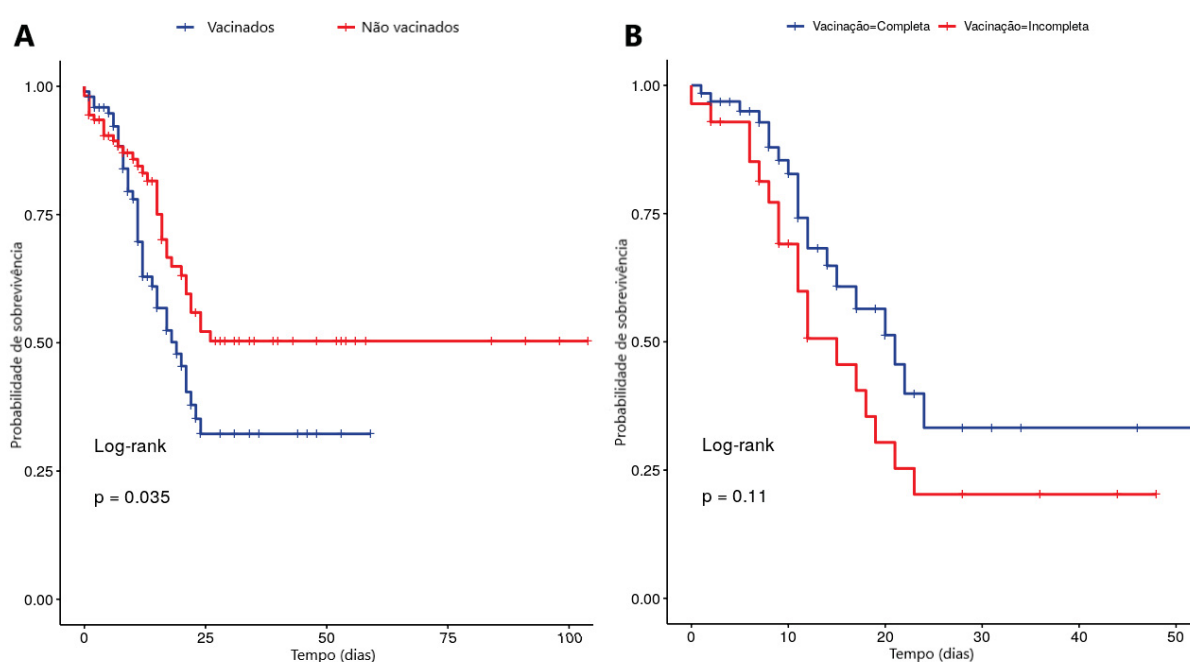
Fonte: O autor (2023).

Entre os pacientes com esquema vacinal completo e incompleto (tabela 3), o perfil epidemiológico de pacientes foi similar aos pacientes analisados na tabela 2, e a idade continua sendo uma variável significativa, o que vai de encontro ao cenário brasileiro no momento da coleta de dados. Entre os pacientes com vacinação completa, os sintomas mais frequentes foram tosse (59%), febre (41%) e fadiga/fraque muscular (41%). Enquanto os pacientes com vacinação incompleta apresentaram sintomas um pouco mais severos como dispneia (90%), fadiga e fraqueza muscular (39%) e estado mental alterado (32%). Para ambos os grupos, dessaturação e necessidade de oxigênio suplementar foram frequentes, uma explicação se deve ao local de realização do estudo, o CHC-UFPR foi um hospital referência para casos moderados e graves na cidade de Curitiba e região metropolitana. Visto isso, o perfil de doenças moderadas a graves são frequentes nesta localidade quando comparado à população geral de infectados. Doenças cardiovasculares foram as comorbidades mais frequentes para ambos, entretanto, no que se diz ao desfecho, entre os pacientes com esquema vacinal completo a alta foi mais frequente (64%), enquanto nos pacientes com esquema vacinal incompleto

houve maior mortalidade (68%). Destaca-se que entre as variáveis com diferença significativa na análise bivariada, somente idade e desfecho continuaram significativas após ajustadas.

Para entender a significância da variável fatalidade nos grupos de pacientes vacinados e não vacinados, curvas de sobrevida de Kaplan-Meier foram elaboradas. Na análise de sobrevida hospitalar, observa-se uma maior sobrevida no grupo de pacientes não vacinados, quando comparados a diferença encontrada foi de xx dias a menos no ponto de 50% de sobrevida (Figura 11A), sendo esta diferença estatisticamente significativa. Buscando avaliar se a vacinação completa teria um impacto na sobrevida dos pacientes, este grupo foi comparado com aqueles que tiveram vacinação incompleta, observou-se uma menor sobrevida deste último grupo (vacinação incompleta), porém sem significância estatística (Figura 11B).

FIGURA 12 - CURVAS DE SOBREVIDA (KAPLAN-MEIER) DE PACIENTES HOSPITALIZADOS POR COVID-19 COM E SEM VACINAÇÃO (A) E COM VACINAÇÃO COMPLETA OU INCOMPLETA (B)



Fonte: O autor (2023).

Tais achados foram intrigantes, uma vez que dentre as equipes assistenciais de linha de frente no atendimento aos pacientes com Covid-19, observou-se que o início da vacinação no Brasil marcou uma mudança no perfil de pacientes

hospitalizados com doença moderada a grave, sendo estes mais jovens e sem comorbidades tão expressivas.

Buscando compreender esta diferença, avaliou-se entre os pacientes com vacinação completa aqueles que haviam recebido a vacina oportunamente, ou seja, que tivessem desenvolvido doença após 14 dias do recebimento da vacina. Na tabela 6 estes dados são demonstrados, nenhuma diferença significativa foi observada, sendo que o desfecho óbito ocorreu em 38% de ambos os subgrupos e, devido ao pequeno número de pacientes com vacinação não oportuna, não foi possível fazer uma análise de sobrevida.

Como possíveis explicações para este achado, em concordância com o contexto brasileiro, a CoronaVac foi o primeiro imunizante aprovado para uso no Brasil, sendo o mais empregado na população do estudo. Durante o período pandêmico, a disponibilidade de vacinas importadas foi um obstáculo, e consequentemente, o imunizante produzido pelo Instituto Butantan (São Paulo, Brasil) foi distribuído em larga escala para o território nacional. Uma análise de efetividade vacinal multicêntrica realizada na América Latina, o qual teve seus dados do centro de Curitiba (Brasil) compilados para este estudo, relatou que todas as vacinas administradas no território brasileiro mostraram efetividade, porém com variações entre os produtos. Como esperado, a efetividade vacinal foi maior em pacientes que possuíam esquema vacinal completo. A CoronaVac, imunizante mais aplicado no Brasil e na população deste estudo, apresentou 53% de eficácia no estudo em pacientes com esquema vacinal completo, e a efetividade demonstrou uma queda com o aumento da idade dos pacientes (MS, 2023). Uma vez que a população deste estudo é representada em sua maioria por idosos, que compreendem os primeiros imunizados e no momento do estudo já completavam cinco meses desde a última dose, é possível que a efetividade vacinal também tenha sido reduzida pela queda da imunidade, reforçando a necessidade da aplicação de doses de reforço, os denominados *boosters*. Isso porque, estudos revelam que anticorpos anti-SARS-CoV-2 produzidos através da imunidade vacinal demonstram uma queda no período de 3 a 6 meses após a aplicação (BAYART, *et al.*, 2021; YIGIT, *et al.*, 2021; BUENO, *et al.*, 2022) e a efetividade vacinal é reduzida com o aumento da idade para aqueles ≥ 70 anos (RANZANI, *et al.*, 2021). Os *boosters*, são recomendados na modalidade homóloga ou heteróloga e possuem efeitos positivos no aumento da imunidade, inclusive contra as VOCs, que surgiram

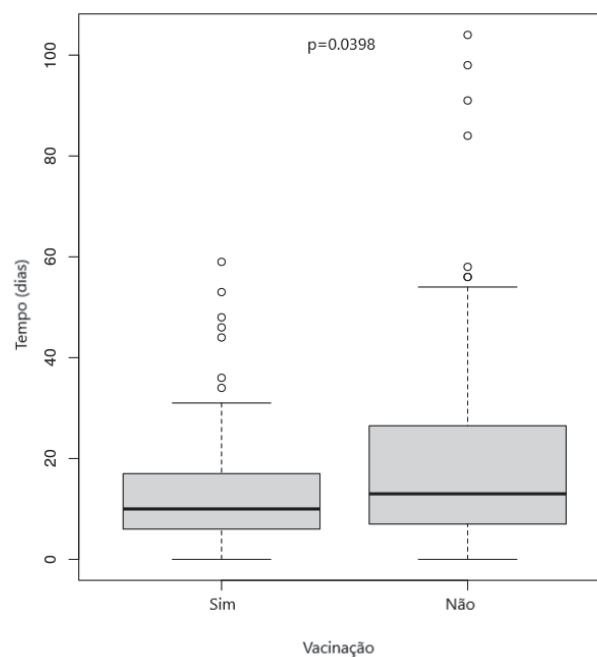
após o desenvolvimento das vacinas projetadas contra a infecção da cepa ancestral (Wuhan) (YUE, *et al.*, 2021). Estudo realizado com 32 indivíduos com administração de *booster* com CoronaVac apresentou aumento significativo na imunidade, com aumento maior de quatro vezes no número de nAb quando comparado com o pico observado 14 dias após a segunda dose (LIANG, *et al.*, 2022). Além disso, uma única dose de CoronaVac foi associada à uma baixa proteção em pacientes sintomáticos e admissões hospitalares, fomentando a conclusão do esquema vacinal completo (RANZANI, *et al.*, 2021).

Para compreender o resultado de maior probabilidade de sobrevivência entre os pacientes não vacinados, a frequência do desfecho “óbito” foi comparada com os demais, e notou-se que pacientes com menor diferença de dias entre início dos sintomas e a última dose da vacina foram mais frequentes no desfecho óbito. Deste modo, pacientes que foram vacinados, mas não tiveram tempo de serem imunizados sorologicamente antes de serem contaminados com o vírus da Covid-19 estavam mais propensos a terem desfecho de óbito (Figura 12).

Em oposição ao estudo multicêntrico, um estudo também realizado no CHC-UFPR analisando o soro de profissionais de saúde do hospital que realizou testes de ELISA para identificação de anticorpos IgG anti-S1 e anti-N, como ferramenta para prever a neutralização, relatou taxa de 97% de soroconversão entre os profissionais de saúde 40 dias após a realização da primeira dose (BOCHNIA-BUENO, *et al.*, 2022). Em contraste com as demais vacinas aprovadas para administração no território brasileiro que mostraram proteção após a primeira dose, a CoronaVac apresentou baixa proteção até a aplicação da segunda dose (mais de quatro semanas após a primeira dose) (SOUZA, *et al.*, 2021). Ranzini e colaboradores discorrem que dado o cenário de uma única dose apresentar baixa proteção, principalmente em idosos, a recomendação é que países com dificuldade em aquisição de insumos que aderirem à aplicação do imunizante CoronaVac foquem seus recursos na conclusão do esquema vacinal ao invés da aplicação de uma única dose na tentativa de abranger uma maior fração da população. Deste modo, a conclusão do esquema vacinal em uma única parcela da população teria um impacto positivo quando comparado à aplicação de apenas uma dose em uma parcela maior da população, no contexto do imunizante CoronaVac (RANZINI, *et al.*, 2021).

O estudo de fase três para análise da CoronaVac realizado com profissionais de saúde apresentou 50,7%, 83,7% e 100% de eficácia em infecções sintomáticas, internações e casos graves, respectivamente (ZHANG, *et al.*, 2021). Enquanto outros estudos de eficácia apresentaram 47% de eficácia na prevenção de infecções sintomáticas bem como efetividade para severidade da doença na população ≥ 70 anos (61% de efetividade nos casos de óbito e 55% para hospitalizações). (RANZINI, *et al.*, 2021). Um estudo analisando população da América Latina apresentou 33% de efetividade para indivíduos parcialmente vacinados, enquanto os integralmente vacinados apresentaram 53% de efetividade (KHAN, *et al.*, 2023).

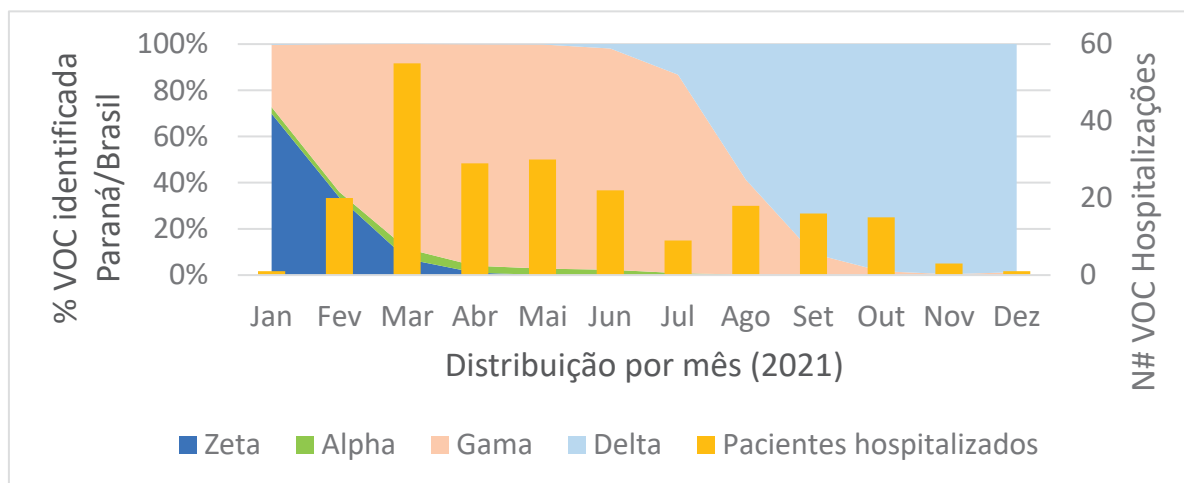
FIGURA 13 – TEMPO ENTRE A ÚLTIMA DOSE DA VACINA E INÍCIO DOS SINTOMAS NOS PACIENTES COM DESFECHO PARA ÓBITO



Fonte: O autor (2023).

Dos 218 pacientes incluídos no estudo multicêntrico realizado em parceria com a OPAS e Fiocruz, 178 obtiveram sucesso no sequenciamento nucleotídico. A distribuição de internamento e variantes avaliadas pode ser observada na Figura 13.

FIGURA 14 - DISTRIBUIÇÃO DAS VOCs IDENTIFICADAS NOS PACIENTES E NÚMERO DE HOSPITALIZAÇÕES MENSAL DOS PACIENTES INCLUÍDOS NO ESTUDO 1 EM 2021

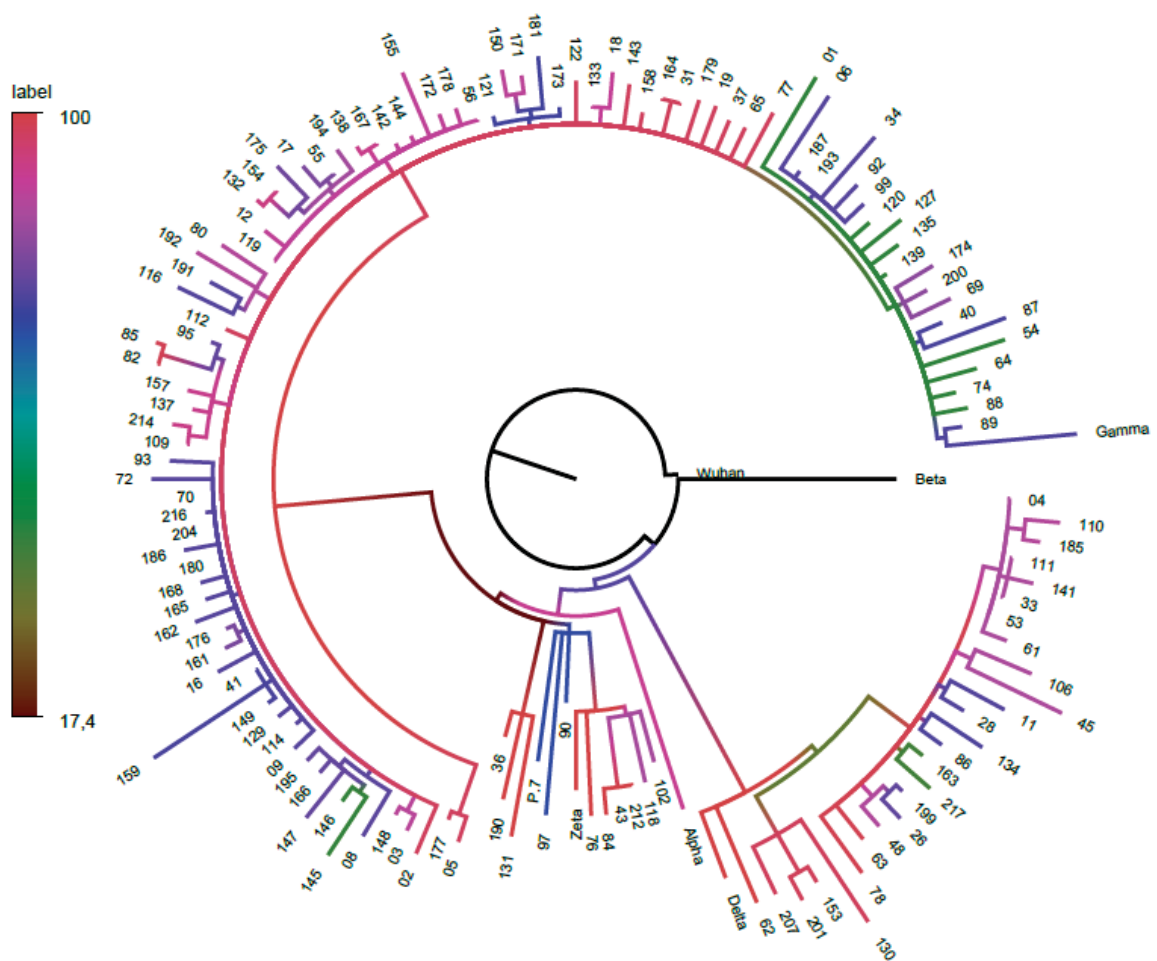


Nota: VOCs = *Variants of concern*

Fonte: O autor (2023).

Os resultados do sequenciamento nucleotídico foram compilados e uma árvore filogenética foi construída (Figura 14), que oportuniza a identificação das variantes responsáveis pela infecção nos pacientes incluídos no estudo que estavam internados no período de agosto de 2021 a fevereiro de 2022. Os trechos numerados são provenientes dos pacientes incluídos no estudo, enquanto as sequências nomeadas descritas são referências obtidas do banco de dados GISAID. As sequências foram coloridas de acordo com o gradiente de *bootstrap*, que descreve o por cento de vezes que um clado é apoiado (CALDART, *et al.*, 2016).

FIGURA 15 - ÁRVORE FILOGENÉTICA COM DISTÂNCIA DE MÁXIMA VEROSSIMILHANÇA COMPOSTA, REPRESENTANDO 178 GENOMAS COMPLETOS E SEQUÊNCIAS REFERÊNCIA, COLORIDOS DE ACORDO COM O GRADIENTE DE BOOTSTRAP



Nota: Os links das sequencias utilizadas estão descritas no Anexo 2.

Fonte: O autor (2024).

O perfil de distribuição das variantes identificadas nos quadros de infecção dos pacientes incluídos vai de acordo com a circulação das variantes observada na Figura 13, no qual a variante Gama foi a mais frequente.

Desde a descrição do novo coronavírus, no início de 2020, houve um grande esforço conjunto para o desenvolvimento de vacinas na tentativa de promover imunidade contra o novo agente. Entretanto, a linhagem circulante na época de desenvolvimento das vacinas correspondia à variante ancestral, denominada Wuhan, e apenas cerca de um ano depois as vacinas começaram a ser administradas na população. Outras variantes foram descritas e estas foram as responsáveis pela manutenção da pandemia por meio de mutações pontuais que conferiam maior escape vacinal e alta taxa de infecção e transmissibilidade, como a

variante Gama (RANZANI, *et al.*, 2021). Responsável por uma importante onda epidemiológica no início de 2021, a variante Gama foi inicialmente detectada em Manaus e possui mutações que conferiram redução na soroneutralização *in vitro*, além de associação a um aumento na gravidade da doença. A redução da efetividade vacinal pode estar associada a características de escape imunológico das variantes pós ancestrais (SOUZA, *et al.*, 2021).

4.2 RESULTADOS ESTUDO 2 – ESTUDO TRANSVERSAL

Dos 37 pacientes incluídos neste estudo, mais da metade era do sexo masculino (51%), com idade média de 67 anos. Em relação aos dias de sintomas na admissão, a média foi de 17 dias, e a maioria recebeu alta (81%) após um período médio de internação de 10,7 dias (Tabela 5). Os sintomas mais comuns foram tosse (46%), dispneia (32%) e fraqueza (29%), quase metade necessitaram de oxigenoterapia complementar (48%). Todos tinham realizado vacinação completa (Tabela 5).

TABELA 5 - DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS DOS PACIENTES COM COVID-19 E VACINAÇÃO COMPLETA INCLUÍDOS NO ESTUDO 2

	n (%)	37(100)
Sexo		
Feminino		18 (49)
Masculino		19 (51)
Idade		
Média, anos (intervalo interquartil)		67(64, 75)
Tabagismo		
Fumante		2 (5)
Ex- fumante		7 (19)
Desconhecido		20 (54)
Sintomas na admissão		
Febre		9 (24)
Tosse		17 (46)
Fadiga/ fraqueza		11 (29)
Dor de cabeça		7 (19)
Mialgia		7 (19)
Dor de garganta		3 (8)
Coriza		3 (8)
Anosmia e ageusia		5 (13)
Dispneia		12 (32)

Anorexia/ vômito/ náusea	9 (24)
Diarreia	6 (16)
Estado mental alterado	3 (8)

Tipo de vacina

CoronaVac (Sinovac®)	17 (46)
Comirnaty (Pfizer®)	1 (3)
ChAdOx1 (Astrazeneca®)	3 (8)
Ad26.COV2.S (Janssen®)	16 (43)

Dados do teste

Dias de sintomas no dia do teste	3.4
Amostras sequenciadas	12 (32)
Gama	1 (3)
Delta	11 (29)
Zeta	0
Alfa	0

Dados de admissão

Dias de sintomas na admissão	17
Dias de internamento (média)	10.7
Imagens torácicas anormais	18 (48)
SPO2 <94%	19 (51)
Taquipneia (RF<30)	6 (16)
Infiltrados pulmonares >50%	5 (13)
Uso de drogas vasoativas	4 (11)
Diálise	3 (8)
UTI	7 (19)
Necessidade de suporte respiratório	18 (48)
Ventilação espontânea	14 (38)
Ventilação assistida	4 (11)

Comorbidades

Doenças cardiovasculares	16 (43)
Doenças neurológicas	3 (8)
Doenças pulmonares	1 (3)
Doenças gastrointestinais	3 (8)

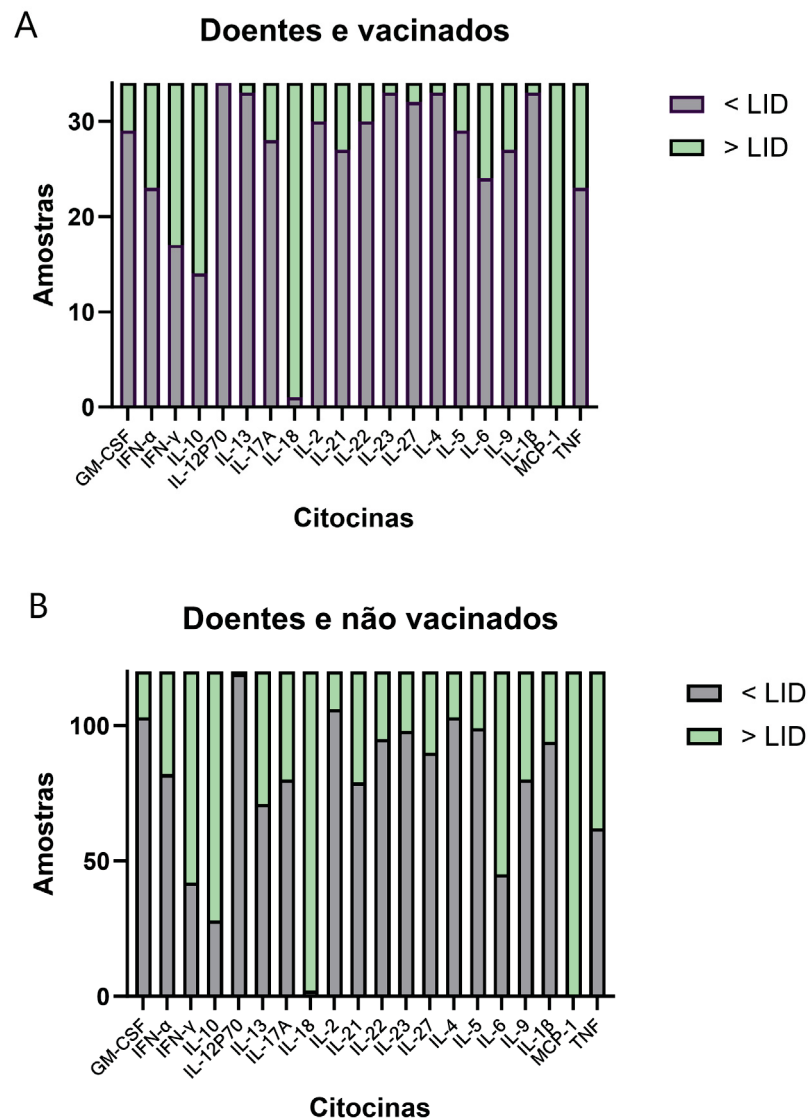
Doenças endócrinas	11 (29)
Doenças renais	4 (11)
Doenças hematológicas	1 (3)
Malignidades	3 (8)
Imunodeficiência	3 (8)
Tratamento psiquiátrico	2 (5)
Obesidade	9 (24)
Desfecho	
Óbito	7 (19)
Alta	30 (81)

Fonte: O autor (2024).

Para dosagem de citocinas e anticorpos foram selecionados os 37 pacientes, totalizando 58 amostras. A média do número de amostras foi de 1,6 por paciente, visto que alguns pacientes tiveram um período de dias de internamento maior que outros, explicando o número de amostras totais (58 amostras).

37 amostras, que correspondem às primeiras amostras de cada paciente, foram encaminhadas para dosagem de citocinas inflamatórias. Dentre as 20 citocinas testadas, a IL-10, IL-18 e MCP-1 tiveram maior expressão em ambos os grupos de pacientes doentes e vacinados (Figura 15A) e de doentes não vacinados (Figura 15B). O grupo de doentes não vacinados corresponde à população descrita por Bochnia-Bueno e colaboradores (2023). Resultados semelhantes foram descritos por Chi e colaboradores (2020), que descreveram um grupo de citocinas e quimiocinas em uma coorte de pacientes graves. Esses marcadores solúveis já estavam correlacionados com a gravidade da doença, atuando como preditores de casos graves (HUANG, *et al.*, 2020; QUIN, *et al.*, 2020).

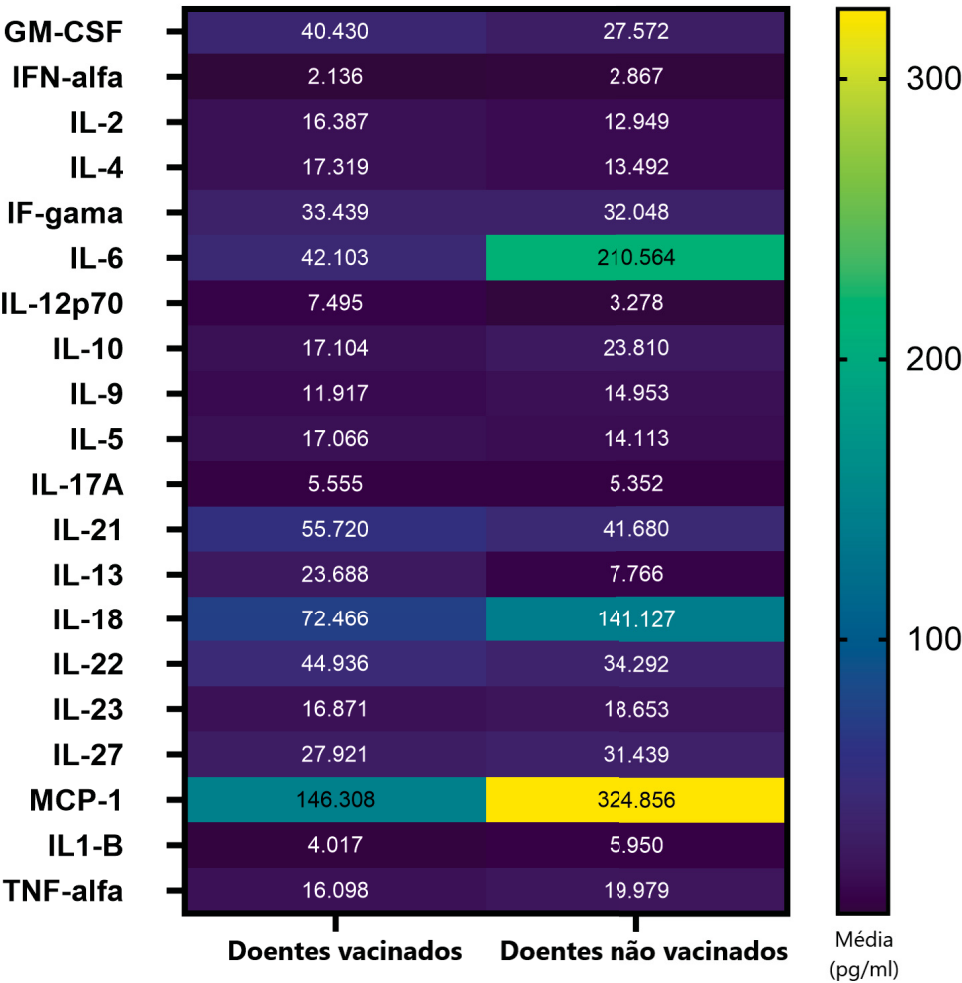
FIGURA 16 - EXPRESSÃO DAS CITOCINAS TESTADAS EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E COM VACINAÇÃO COMPLETA COMPARADO COM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19 E SEM VACINAÇÃO



Fonte: O autor (2023).

Apesar da semelhança entre as citocinas mais expressas nos grupos de doentes vacinados e não vacinados, o perfil de expressão dos marcadores foi diferente no que diz respeito à titulação (Figura 16).

FIGURA 17 - CONCENTRAÇÃO DAS CITOCINAS INVESTIGADAS EM DOENTES VACINADOS E NÃO VACINADOS



Fonte: O autor (2024).

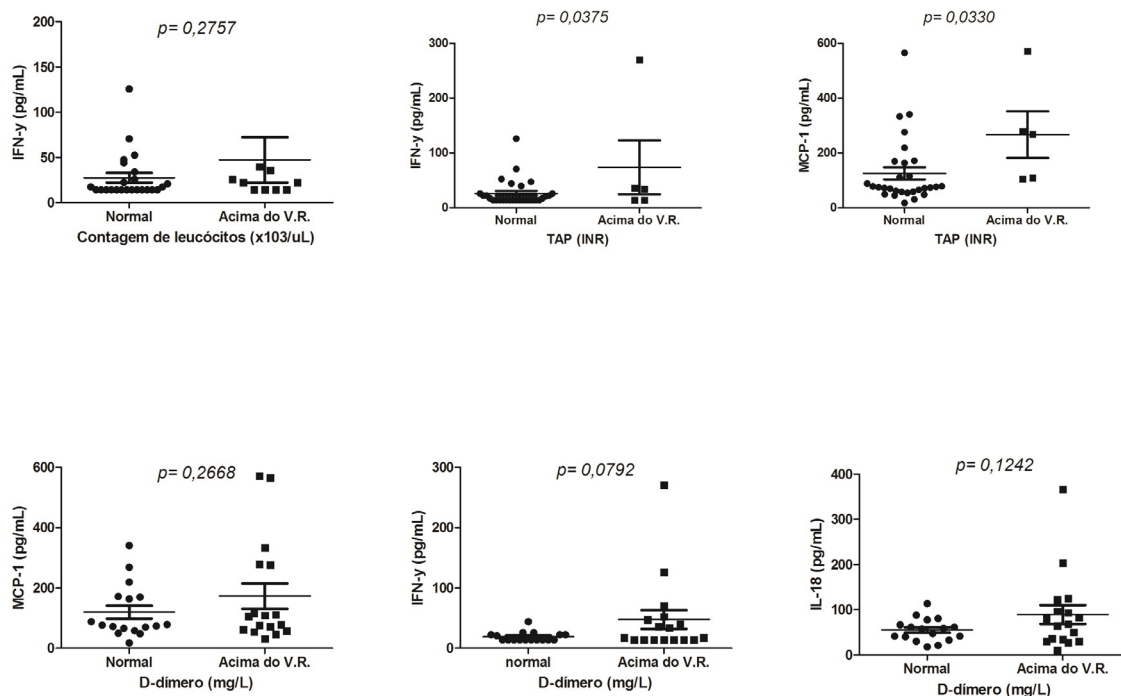
Resultados semelhantes foram discutidos por Zhu e colaboradores (2023), em que pacientes vacinados e infectados por SARS-CoV-2 apresentaram menor concentrações de citocinas e quimiocinas quando comparados à grupo de pacientes não vacinados. Além disso, pacientes não vacinados apresentaram altos níveis de IL-7 e IL-8 mesmo 3 meses após a infecção pelo agente da Covid-19, sugerindo que a vacinação pode desempenhar papel protetor neste aspecto. A super expressão de citocinas pró-inflamatórias atua como defesa contra infecções virais, mas também está relacionada à lesão tecidual. Este cenário pode explicar por que alguns marcadores solúveis podem prever casos graves (CHI, *et al.*, 2020).

Apesar da diferença entre as titulações identificadas nas duas populações da Figura 16, a MCP-1 foi a citocina com maior expressão em ambos os grupos. A MCP-1 já foi elencada por outros autores como um preditor de gravidade de doença,

e desenvolve um fator importante na patogênese da doença no que diz respeito ao recrutamento de monócitos durante o curso da doença (CHEN, *et al.*, 2020; WU, *et al.*, 2020). A MCP-1 também é classificada como um indicador relacionado à trombose e seus níveis aumentam conforme a gravidade do quadro infeccioso, mostrando-se elevada em quadros graves onde pacientes também apresentam elevação dos níveis de D-dímero, elencando como uma possível relação com risco de morte destes pacientes (CHEN, *et al.*, 2020).

Além disso, as dosagens destas citocinas foram comparadas a outros resultados laboratoriais dos pacientes, como a contagem de leucócitos, tempo de atividade de protrombina (TAP) e D-dímero. Essa comparação revelou que a alteração do D-dímero foi frequentemente observada principalmente em pacientes que tiveram expressão de IFN- γ , IL-18 e MCP-1, apesar de não significativa estatisticamente (Figura 17). Entretanto, títulos alterados de TAP foram correlacionados com pacientes com maior expressão de IFN- γ e MCP-1.

FIGURA 18 - EXPRESSÃO DE CITOCINAS IFN- γ , MCP-1 e IL-18 DE ACORDO COM OS RESULTADOS LABORATORIAIS DE LEUCÓCITOS, TAP E D-DÍMERO



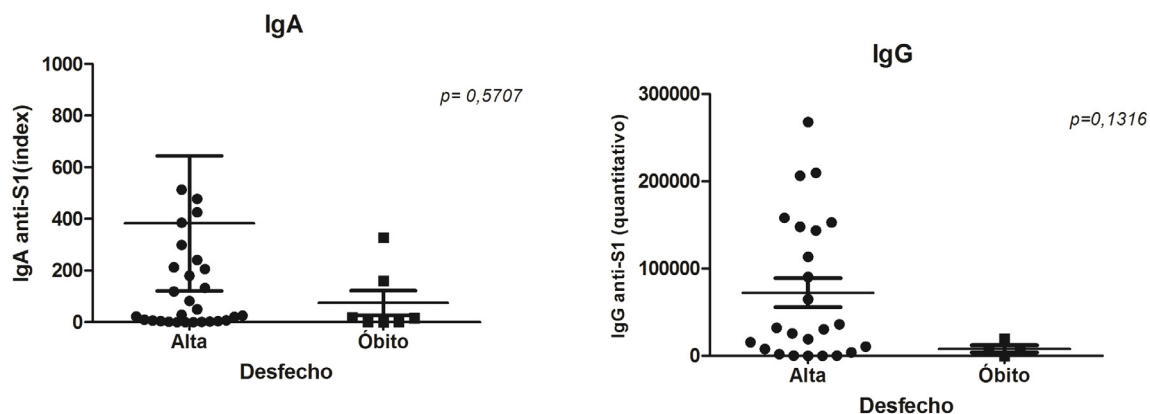
Valores de referência para contagem de leucócitos: 3,8-11,0 $\times 10^3/\mu\text{L}$. Valores de referência para D-dímero: $>0,55$ ng/mL. Valores de referência para PCR $\leq 0,5$ mg/mL. Valores de referência para contagem de plaquetas: 140.000 – 400.000/ μL .

Fonte: O autor (2023).

Alguns parâmetros como linfocitopenia, leucocitose, alterações em alguns marcadores de coagulação como D-dímero e TAP e marcadores de inflamação como proteína C reativa (PCR), ferritina, neutrófilos e procalcitonina foram relacionados a pior prognóstico em pacientes com doença grave quando comparado aos casos leves e moderados (SEBOTAIO, 2022; AKIN, *et al.*, 2023). Huang e colaboradores mostraram que pacientes internados em unidades de terapia intensiva (UTI) apresentavam alterações no D-dímero na admissão, e dosagens acima de 1µl/mL estão associadas ao óbito (HUANG, *et al.*, 2020). Devido à produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias geradas pela exposição do conteúdo celular e ativação plaquetária, a Covid-19 predispõe a eventos tromboembólicos, reiterando a importância da avaliação de marcadores de coagulação e inflamatórios e da aplicação de tromboprofilaxia nos casos aplicáveis (GOROG, *et al.*, 2020; TEIMURY, *et al.*, 2022). Estudos discorrem que pacientes com D-dímero elevado possuem MCP-1 elevada, independente do desfecho do paciente, sugerindo que a alteração do D-dímero seja um fator de risco independente para óbitos na Covid-19 (WU, *et al.*, 2020).

Os resultados dos índices de IgG e IgA foram comparados com o desfecho de mortalidade dos pacientes, na Figura 18 (no teste de titulação de IgG, a maioria das amostras está acima do limite de detecção, justificando a ausência de dados para alguns pacientes e a não utilização de medidas de índice). A IgG foi mais expressa que a IgA, isso pode estar relacionado aos nAb, que são em sua maioria do grupo das IgG. Outra hipótese pode estar relacionada ao tempo de doença, uma vez que esses pacientes apresentavam em média 17 dias de sintomas na admissão. Na Covid-19, após 14 dias, os níveis de IgM começam a diminuir à medida que o IgG aumenta.

FIGURA 19 - ANÁLISE PARCIAL DE IgA E IgG (ÍNDICE) DE ACORDO COM O DESFECHO



Fonte: O autor (2023).

Em relação aos níveis de nAb, as amostras coletadas com intervalo de 7 dias foram encaminhadas ao Instituto Butantan para execução do teste de cVNT. Todas as 58 amostras foram testadas como cVNT para as variantes Wuhan, Delta, Ômicron e Gama (Tabela 6). A maioria das amostras apresentou manutenção do título de nAb ao longo das semanas, este se mantendo igual ou maior que o título da semana anterior. Poucas não apresentaram neutralização para uma a três das variantes (cVNT <20). E apenas 2 (3%) não apresentaram título de neutralização para nenhuma das variantes, destes, o desfecho de mortalidade foram distintos, sendo um óbito e outra de alta hospitalar.

TABELA 6 - RESULTADOS cVNT DAS AMOSTRAS DE PACIENTES COM ESQUEMA VACINAL COMPLETO E HOSPITALIZADOS POR COVID-19

	Wuhan	Delta	Ômicron	Gama
Aumento no título cVNT₁₀₀ em relação à amostra anterior n(%)	3 (5,17)	7 (12)	7 (12)	3 (5,17)
Sem neutralização n(%)	8 (13,79)	8 (13,79)	18 (31)	6 (10,3)
Média cVNT₁₀₀	700,83	634,09	214,16	560

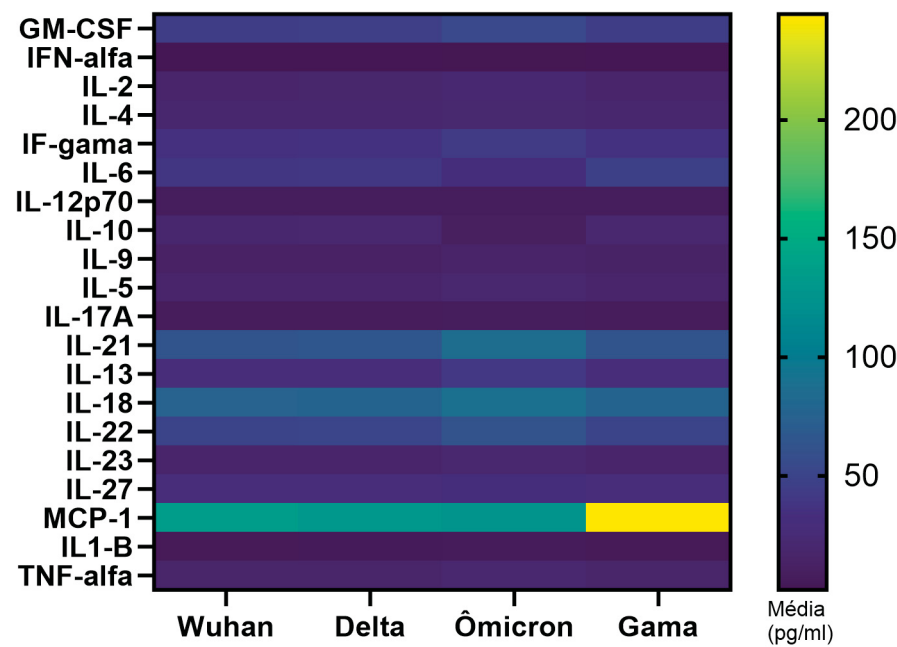
Nota: cVNT = ksudis

Fonte: O autor (2024).

Amostras de *swab* dos pacientes, quando disponíveis, foram enviadas para sequenciamento nucleotídico. No entanto, apenas 15 (40%) amostras estavam disponíveis e 12 (32%) tiveram um ensaio de sequenciamento nucleotídico bem-sucedido; 3 deles falharam no ensaio. A maioria (11 amostras) era a variante Delta e uma variante Gama. Este cenário pode ser explicado tendo em vista que alguns pacientes foram encaminhados de unidades básicas de saúde com testes de antígeno positivos ou de outras instituições com testes positivos anteriores, e visto que o momento do estudo conduzido houve uma grande circulação das variantes Gama e Delta (MS, 2021).

Ao comparar a expressão dos marcadores solúveis com variantes, o título médio foi semelhante em Wuhan, Gama e Delta. Ômicron foi a variante mais distinta, mas não apresentou diferença significativa (Figura 19).

FIGURA 20 - CONCENTRAÇÃO DAS CITOCINAS TESTADAS NAS AMOSTRAS DE PACIENTES INFECTADOS COM AS VARIANTES WUHAN, DELTA, ÔMICRON E GAMA



Fonte: O autor (2024).

Ao compararmos a variante Ômicron com as demais, ela possui maior quantidade de mutações, exibindo maior infectividade e habilidade de escapes imunes, com risco 3 vezes maior de infecções primárias e reinfecções quando

comparadas às variantes Beta e Delta (MIAO, REN e REN, 2023). O perfil da infecção desta variante inclui maior número de casos de pacientes assintomáticos, com uma janela de reinfecções mais frequente, sugerindo que embora exista uma proteção contra reinfecções, esta não perdura por muito tempo. Com a circulação da Ômicron, a capacidade de neutralização foi fortemente discutida, visto que esta aparentava ser reduzida devido ao aumento expressivo no número de casos. Logo, um grande desafio no desenvolvimento de novas vacinas com alvos distintos ou atualizados para a variante circulante na época foi traçado, visto que, as vacinas disponíveis foram desenvolvidas frente à variante ancestral, inicialmente identificada em Wuhan, na China, além de disponibilidade de medicamentos antivirais que poderiam ajudar no manejo do aumento de casos.

No que diz ao perfil de doença e expressão de citocinas inflamatórias, a variante Ômicron, apesar de apresentar alta taxa de infectividade, demonstrou-se uma variante com perfil mais brando de infecções. Um estudo conduzido por Korobova e colaboradores (2022) que avaliou o perfil de expressão de citocinas nas quatro variantes Wuhan, Gama, Delta e Ômicron, demonstrou que Delta e Ômicron apresentaram um perfil mais ameno de expressão de citocinas quando comparados às outras variantes. Os autores discorrem que uma hipótese de explicação pode estar relacionada ao sítio de infecção, visto que variante Wuhan mostrou tendência de acometimento do trato respiratório inferior, provocando uma doença mais intensa e com maior progressão de gravidade, enquanto Ômicron e Delta tendem a apresentar sintomas mais brandos do trato respiratório superior, como coriza e espirros, além de anosmia e ageusia (KOROBOVA, *et al.*, 2022; SCHULZE e BAYER, 2022).

Estes estudos apresentaram algumas limitações. A coleta de dados retrospectivos foi um fator limitante, dificultando a uniformidade de informações para todos os pacientes, bem como limitações de financiamento, que impossibilitaram a realização da dosagem de citocinas e anticorpos em todas as amostras disponíveis do estudo transversal. Além disso, o CHC-UFPR foi um hospital referência no início da pandemia e em meados de 2021 os casos passaram a ser referenciados para outras instituições, limitando o número de pacientes admitidos e diminuindo o número de pacientes incluídos nos estudos desta dissertação.

Entretanto, estes estudos apresentam pontos fortes. Mesmo com a intensa lista de publicações acerca do SARS-CoV-2 e da Covid-19, vale ressaltar que este

agente e doença foram identificados há a apenas 4 anos. O “*gap*” de conhecimento do vírus e a doença ainda é grande, e todos os esforços em elucidar diferentes aspectos destes tópicos são importantes.

5 CONCLUSÕES

Pacientes com Covid-19 e vacinados apresentaram maior idade, maior frequência de malignidade e sem diferença na letalidade;

Pacientes com vacinação completa apresentaram significativamente menor fatalidade quando comparados com aqueles com vacinação incompleta;

Pacientes com vacinação oportuna e internados com Covid-19 apresentavam altas concentrações de IgA e IgG e altos títulos de nAb contra as 4 variantes virais do SARS-CoV-2;

Houve predominância das variantes Gama e Delta no período de condução do estudo, o que condiz com os relatos de boletins epidemiológicos estaduais no mesmo período;

A variante Gama demonstrou perfil de expressão de citocinas inflamatórias exacerbado, enquanto a Ômicron apresentou um perfil menos intenso;

MCP-1, IL-18, IFN- γ foram as principais citocinas expressas e envolvidas com alterações de exames laboratoriais sugerindo fatores preditivos de prognóstico da doença.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com o avanço da vacinação no Brasil e no mundo, tem aumentado o número de internamentos de pacientes com Covid-19 e que receberam o esquema completo vacinal conforme o patrocinador. Logo, dados sobre a avaliação da imunidade sorológica contra a Covid-19 e avaliação de perfil da doença nestes pacientes auxiliará na atualização vacinal e avaliação da efetividade das vacinas aplicadas atualmente em comparação às cepas circulantes atualmente no estado do Paraná.

A dosagem de biomarcadores específicos pode auxiliar na rápida identificação de pacientes com tendência a desenvolver uma doença severa. Tempestade de citocinas pode estar diretamente relacionada à gravidade da doença. Além disso, pacientes com progressão severa da Covid-19 podem se beneficiar através de tratamentos imunomodulatórios.

Os resultados desta pesquisa serão tornados públicos por meio de publicações em revistas científicas, congressos e monografias, conforme aplicável.

REFERÊNCIAS

- AKIN, E.; KARABAY, O.; TOCOGLU, A.; et al. Does Monocyte Chemoattractant Protein-1 Levels Determine the Prognosis of Covid-19 Disease in Kidney Transplant Recipients? Emrah. **Transplantation Proceeding**, v. 55, n. 2, p. 1121–1124, 2023. Disponível em: <<http://www.unpcdc.org/media/15782/sustainable>> .
- ALCANTARA, L. C. J.; NOGUEIRA, E.; SHUAB, G.; et al. SARS-CoV-2 epidemic in Brazil: how the displacement of variants has driven distinct epidemic waves. **Virus Research**, v. 315, n. April, 2022.
- ALSOUSSI, W. B.; MALLADI, S. K.; ZHOU, J. Q.; et al. SARS-CoV-2 Omicron boosting induces de novo B cell response in humans. **Nature**, v. 617, n. 7961, p. 592–598, 2023. Springer US.
- ALVES, J.; ENGEL, L.; DE VASCONCELOS CABRAL, R.; et al. **A bioluminescent and homogeneous SARS-CoV-2 spike RBD and hACE2 interaction assay for antiviral screening and monitoring patient neutralizing antibody levels**. Scientific Reports, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2021. Nature Publishing Group UK.
- AMANAT, F.; WHITE, K. M.; MIORIN, L.; et al. An In Vitro Microneutralization Assay for SARS-CoV-2 Serology and Drug Screening. **Current Protocols in Microbiology**, v. 58, n. 1, p. 1–15, 2020.
- BAYART, J. L.; DOUXFELS, J.; GILLOT, C.; et al. Waning of igg, total and neutralizing antibodies 6 months post-vaccination with bnt162b2 in healthcare workers. **Vaccines**, v. 9, n. 10, p. 1–12, 2021.
- BELDA-INIESTA, C. **Optimising SARS-CoV-2 vaccination schedules**. The Lancet. 2021. 398(10303): 819–821.
- BEWLEY, K. R.; COOMBES, N. S.; GAGNON, L.; et al. **Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by wild-type plaque reduction neutralization, microneutralization and pseudotyped virus neutralization assays**. Nature Protocols, 1. jun. 2021. Nature Research.
- BOCHNIA-BUENO, L.; MONTEIRO, S.; ALMEIDA, D.; et al. Dynamic of humoral response to SARS-CoV-2 anti-Nucleocapsid and Spike proteins after CoronaVac vaccination. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 102, n. January, p. 1–6, 2022.
- BOCHNIA-BUENO, L.; NOGUEIRA, M. B.; GENELHOUD, G.; RABONI, S. M. Antibody response following a Comirnaty booster dose in CoronaVac vaccinated individuals. . **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 102, n. January, p. 1–6, 2022.
- BOCHNIA-BUENO, L.; FERREIRA, L. H.; GENELHOUD, G.; NOGUEIRA, M. B.; RABONI, S. M. IgA antibody dynamics in healthcare workers after CoronaVac® vaccination and heterologous Comirnaty® booster dose. **Brazilian Journal of**

Microbiology, v. 54, n. 2, p. 921–927, 2023. Springer International Publishing. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s42770-023-00935-1>>.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **COVID-19 Vacinação doses Aplicadas**. 2021 Junho. Disponível em: <https://viz.saude.gov.br/extensions/DEMAS_C19Vacina/DEMAS_C19Vacina.html>.

BRITO, S. B. P.; MORAES, M. M.; CUNHA, C. C.; LEÃO, S. C.; TAKENAMI, I. Immunopathological mechanisms involved in SARS-CoV-2 infection. **J Bras Patol Med Lab**, v. 56, p. 1–10, 2020.

CAMPOS, G. S.; GIOVANETTI, M.; MORAES, L. DE; SOUZA, H. Genomic monitoring unveils a high prevalence of SARS-CoV-2 Omicron variant in vaccine breakthrough cases. **MedRxiv**, v. 1, p. 1–13, 2022.

CDC. **Antibody Responses to SARS-CoV-2**. 2020. 2Ed. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/library/covid19>>.

CERQUEIRA-SILVA et al. **The effectiveness of Vaxzevria and CoronaVac vaccines: A nationwide longitudinal retrospective study of 61 million Brazilians (VigiVac-COVID19)**. *MedRxiv*, p. 1–41, 2021.

CHEN, Y.; WANG, J.; LIU, C.; et al. IP-10 and MCP-1 as biomarkers associated with disease severity of COVID-19. **Molecular Medicine**, v. 26, n. 1, p. 1–12, 2020. BioMed Central. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s10020-020-00230-x>>.

CHI, Y.; GE, Y.; WU, B.; et al. Serum cytokine and chemokine profile in relation to the severity of coronavirus disease 2019 in China. **Journal of Infectious Diseases**, v. 222, n. 5, p. 746–754, 2020.

DESHPANDE, G. R. et al. **Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients**. *Indian J Med Res*, n. August, p. 82–87, 2020.

DHAMA, K.; KHAN, S.; TIWARI, R.; et al. Coronavirus Disease 2019–COVID-19. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 33, n. 4, p. 1–48, 2020.

DISPINSERI, S. et al. **Neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2 in symptomatic COVID-19 is persistent and critical for survival**. *Nature Communications*, p. 6–17, 2021.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Heterologous primary and booster COVID-19 vaccination: Evidence based regulatory considerations**. December, 2021.

FAVRESSE, J. et al. **Neutralizing Antibodies in COVID-19 Patients and Vaccine Recipients after Two Doses of BNT162b2**. *Viruses*, v. 13, n. 1364, p. 1–13, 2021.

FELÍCIO, L. V.; ROSSI, C. C.; PEREIRA, M. F. A emergência de um novo coronavírus zoonótico: SARS-CoV-2 ea pandemia da COVID-19. **SAPIENS-Revista de divulgação Científica**, v. 2, n. 2, p. 21–38, 2020.

GOROG, D. A.; STOREY, R. F.; GURBEL, P. A.; et al. Current and novel biomarkers of thrombotic risk in COVID-19: a Consensus Statement from the International COVID-19 Thrombosis Biomarkers Colloquium. **Nature Reviews Cardiology**, v. 19, n. 7, p. 475–495, 2022. Springer US.

GRAHAM, R. L.; DONALDSON, E. F.; BARIC, R. S. A decade after SARS: Strategies for controlling emerging coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 11, n. 12, p. 836–848, 2013. Nature Publishing Group.

GRIFFIN, S. Covid-19: **Fully vaccinated people can carry as much delta virus as unvaccinated people , data indicate**. BMJ Open, v. 374, n. August, p. 2074, 2021.

HELMY, Y. A.; FAWZY, M.; ELASWAD, A.; SOBIEH, A. The COVID-19 Pandemic : A Comprehensive Review of Taxonomy , Genetics , Epidemiology , Diagnosis , Treatment , and Control. **Journal of Clinical Medicine**, v. 9, n. 1225, p. 1–29, 2020.

HERRLEIN, M. L.; HEIN, S.; ZAHN, T.; et al. **Comparative Investigation of Methods for Analysis of SARS-CoV-2-Spike-Specific Antisera**. Viruses, v. 14, n. 2, 2022. MDPI.

HEINZ, F. X.; STIASNY, K. Profile of SARS-CoV-2. **Wiener Klinische Wochenschrift**, v. 132, n. 21–22, p. 635–644, 2020.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRUGER, N.; HERRLER, T. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell Press**, v. 181, n. January, p. 271–280, 2020.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; JIANPING ZHAO. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 20, p. 497–506, 2020.

IKEWAKI, N.; KUROSAWA, G.; LEVY, G. A.; PREETHY, S. Antibody dependent disease enhancement (ADE) after COVID-19 vaccination and beta glucans as a safer strategy in management. **Vaccine**, v. 41, n. January, p. 2427–2429, 2023.

ISRAEL, A. et al. **Elapsed time since BNT162b2 vaccine and risk of SARS- CoV-2 infection in a large cohort**. Leumit Research Institute & Department of Family Medicine, Leumit Health Services. MedRxiv, p. 1–17, 2021.

JAMIU, A. T.; POHL, C. H.; BELLO, S.; ADEDOJA, T.; SABIU, S. A review on molecular docking analysis of phytochemicals against SARS-CoV-2 druggable targets. **All life**, v. 14, n. 1, p. 1100–1128, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/26895293.2021.2013327>>. .

JIANG, S. et al. **Neutralizing antibodies for the treatment of COVID-19**. Nature Biomedical Engineering, v. 4, n. December, 2020.

JIN, Y.; CAI, L.; CHENG, Z.; et al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). **Military Medical Research**, v. 7, n. 4, p. 1–23, 2020.

KAHN, R.; JANUSZ, C. B.; CASTRO, M. C.; et al. The effectiveness of COVID-19 vaccines in Latin America, 2021: a multicenter regional case–control study. **Lancet Regional Health - Americas**, v. 20, n. 100474, p. 1–12, 2023. Elsevier Ltd.

KERSTER, G. et al. **Potent neutralizing antibodies from COVID-19 patients define multiple targets of vulnerability**. *Science*, v. 650, n. August, p. 643–650, 2020.

KOROBOVA, Z. R.; ARSENTIEVA, N. A.; LIUBIMOVA, N. E.; et al. Cytokine Profiling in Different SARS-CoV-2 Genetic Variants. **Molecular Sciences**, v. 23, n. 14146, p. 1–18, 2022.

LANA, R. M.; COELHO, F. C.; DA COSTA GOMES, M. F.; et al. The novel coronavirus (SARS-CoV-2) emergency and the role of timely and effective national health surveillance. **Cadernos de Saude Publica**, v. 36, n. 3, 2020.

LEVI, J. E.; LEVI, M. **Nota Técnica SBIm 26/03/2021- SBIm não recomenda a realização de sorologia para avaliar resposta imunológica às vacinas COVID-19**. Sociedade Brasileira de Imunizações, n. 11, p. 1–8, 2021.

LIANG, X. M.; XU, Q. Y.; JIA, Z. J.; et al. A Third Dose of an Inactivated Vaccine Dramatically Increased the Levels and Decay Times of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies, but Disappointingly Declined Again: A Prospective, Longitudinal, Cohort Study at 18 Serial Time Points Over 368 Days. **Frontiers in Immunology**, v. 13, n. April, p. 1–9, 2022.

LIU, S. et al. **Safety and immunogenicity of heterologous versus homologous prime-boost schedules with an adenoviral vectored and mRNA COVID-19 vaccine (Com-COV): a single-blind, randomised, non-inferiority trial**. *The Lancet*. 2021, 398: 856–69.

LU, S. **Heterologous Prime-Boost Vaccination**. *Curr Opin Immunol*. 2009 June ; 21(3): 346–351.

MACIEL, E.; FERNANDEZ, M.; CALIFE, K.; et al. The SARS-CoV-2 vaccination campaign in Brazil and the invisibility of science evidences. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 27, n. 3, p. 951–956, 2022.

MARIËN, J.; MICHIELS, J.; HEYNDRIKX, L.; et al. **Evaluation of a surrogate virus neutralization test for high-throughput serosurveillance of SARS-CoV-2**. *Journal of Virological Methods*, v. 297, 2021. Elsevier B.V.

MARTINELLO, F. Acurácia diagnóstica dos métodos sorológicos de detecção da COVID-19. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 2, p. 155–162, 2021.

MENDRONE-JUNIOR, A.; DINARDO, C. L.; FERREIRA, S. C.; et al. **Correlation between SARS-COV-2 antibody screening by immunoassay and neutralizing antibody testing**. *Transfusion*, v. 61, n. 4, p. 1181–1190, 2021. Blackwell Publishing Inc.

MIAO, Y.; REN, Y.; REN, T. Clinical Characteristics Profile of COVID-19 Patients with Omicron Variant Admitted in a Tertiary Hospital, Central China. **International Journal of General Medicine**, v. 16, n. June, p. 2365–2371, 2023.

MIZRAHI, B. et al. **Correlation of SARS-CoV-2 Breakthrough Infections to Time-from-vaccine**. *MedRxiv*, 2021.

MURUATO, A. E. et al. **A high-throughput neutralizing antibody assay for COVID-19 diagnosis and vaccine evaluation**. *Nature Communications*, n. 2020, p. 1–6, 2021.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **The COVID-19 Treatment Guidelines Panel's Interim Statement on Patient Prioritization for Outpatient Anti-SARS-CoV-2 Therapies or Preventive Strategies When There Are Logistical or Supply Constraints**. Maryland: NIH; 2021. Disponível em: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/therapies/statement-on-patient-prioritization-for-outpatient-therapies/>

NETO, J. B. DE A.; ARCE, I. L.; FIGUEIREDO, V. L. DE P.; VICARI, P. Immunogenicity profile after COVID-19 vaccination in patients with onco-hematological diseases Immunogenicity profile after COVID-19 vaccination in patients with onco-hematological diseases. **Einstein**, v. 21, p. 1–8, 2023.

NURTOP, E.; VILLARROEL, P. M. S.; PASTORINO, B.; et al. **Combination of ELISA screening and seroneutralisation tests to expedite Zika virus seroprevalence studies**. *Virology Journal*, v. 15, n. 1, 2018. BioMed Central Ltd.

OLIVEIRA, P. R. S.; TAVARES, N. M. Resposta imune humoral na COVID-19. **Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais**, 2020. EDUFBA.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **“Solidarity” clinical trial for COVID-19 treatments**. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/global-research-on-novel-corona-virus-2019-ncov/solidarity-clinical-trial-for-covid-19-treatments>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Therapeutics and COVID-19: living guideline**. Genebra: OMS; 2022. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-therapeutics-2022.1>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Considerações sobre o uso de antivirais, anticorpos monoclonais e outras intervenções para o manejo de pacientes com Covid019 na América Latina e no Caribe**. 2022. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/55099>.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Guia para o cuidado de pacientes adultos críticos com coronavírus (COVID-19) nas Américas**. Versão 3 resumida. Washington (DC): OPAS; 2021. Disponível em: <<https://iris.paho.org/handle/10665.2/54432>>.

ORTELAN, N.; FERREIRA, A. J. F.; LEITE, L.; et al. Cloth masks in public places : an essential intervention to prevent COVID-19 in Brazil. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 26, n. 2, p. 669–692, 2021.

PATEL, A. K.; PATEL, D.; SHEVKANI, M.; et al. COVID-19 patients' clinical profile and outcome with respect to their vaccination status: A prospective observational multicentre cohort study during third wave in Western India. **Indian Journal of Medical Microbiology**, v. 41, n. January, p. 28–32, 2020.

PERLMAN, S. Another Decade , Another Coronavirus. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. February, p. 760–762, 2020.

POUWELS, K. B. et al. **Impact of Delta on viral burden and vaccine effectiveness against new SARS-CoV-2 infections in the UK**. MedRxiv, 2021.

PETROVSZKI, D.; WALTER, F. R.; VIGH, J. P.; et al. Penetration of the SARS-CoV-2 Spike Protein across the Blood – Brain Barrier , as Revealed by a Combination of a Human Cell Culture Model System and Optical Biosensing. **Biomedicines**, v. 10, n. 188, p. 1–13, 2022.

PIZZOL, J. L. D.; HORA, V. P.; REIS, A. J.; et al. Laboratory diagnosis for Covid-19 : A mini-review. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 53, n. July, p. 1–5, 2020.

PRÉVOST, J.; GASSER, R.; BEAUDOIN-BUSSIÈRES, G.; et al. **Cross-Sectional Evaluation of Humoral Responses against SARS-CoV-2 Spike**. Cell Reports Medicine, v. 1, n. 7, 2020. Cell Press.

PORTE, L.; LEGARRAGA, P.; VOLLRATH, V.; AGUILERA, X. Evaluation of a novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. **International journal of infectious diseases**, v. 99, n. January, p. 328–333, 2020.

QIN, C.; ZHOU, L.; HU, Z.; et al. Dysregulation of Immune Response in Patients with COVID-19 in Wuhan, China. **SSRN Electronic Journal**, 2020.

RANZANI, O. T.; HITCHINGS, M. D. T.; DORION, M.; et al. Effectiveness of the CoronaVac vaccine in older adults during a gamma variant associated epidemic of covid-19 in Brazil: Test negative case-control study. **The BMJ**, v. 374, n. 374, p. 1–12, 2021.

RENN, A.; FU, Y.; HU, X.; HALL, M. D.; SIMEONOV, A. Fruitful Neutralizing Antibody Pipeline Brings Hope To Defeat SARS-Cov-2. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 41, n. 11, p. 815–829, 2020. Elsevier Ltd. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tips.2020.07.004>>.

SCHULZE, H.; BAYER, W. Changes in Symptoms Experienced by SARS-CoV-2-Infected Individuals – From the First Wave to the Omicron Variant. **Frontiers in Virology**, v. 2, n. July, p. 1–13, 2022.

SEBOTAIO, M. C.; ASTURIAN, K.; NETO, O. J. V. Alterações de parâmetros laboratoriais em pacientes com COVID-19. **Revista de Ciências Médicas**, v. 31, p. 1–8, 2022.

SEKIROV, I.; PETRIC, M.; CARRUTHERS, E.; et al. **Performance comparison of micro-neutralization assays based on surrogate SARS-CoV-2 and WT SARS-CoV-2 in assessing virus-neutralizing capacity of anti-SARS-CoV-2 antibodies.** Access Microbiology, v. 3, n. 8, 2021. Microbiology Society.

SETHURAMAN, N.; STANLEYRAJ, S.; CITY, Y.; RYO, A.; CITY, Y. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. **JAMA Internal Medicine**, v. 6, n. May, p. 2019–2021, 2020.

SHARMA, A.; BALDA, S.; APREJA, M.; KATARIA, K.; CAPALASH, N. COVID-19 Diagnosis: Current and Future Techniques. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 193, n. January, p. 1835–1844, 2020.

SHAW, R. et al., **Heterologous prime-boost COVID-19 vaccination: initial reactogenicity data.** The Lancet. v. 397, n 10289, p 2043-2046, 2021.

SHEIKH, AZIZ; MCMENAMIN, JIM; TAYLOR, BOB; ROBERTSON, C. **SARS-CoV-2 Delta VOC in Scotland: demographics, risk of hospital admission, and vaccine effectiveness.** The Lancet, v. 397, n. June, p. 2461–2462, 2021.

SIDDIQUI, S.; ALHAMDI, H. W. S.; ALGHAMDI, H. A. Recent Chronology of COVID-19 Pandemic. **Frontiers in Public Health**, v. 10, n. May, p. 1–15, 2022.

SOUZA, W. M.; AMORIM, M. R.; SESTI-COSTA, R.; et al. Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study. **The Lancet Microbe**, v. 2, n. 10, p. e527–e535, 2021.

TAN, C. W.; CHIA, W. N.; QIN, X.; et al. **A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2–spike protein–protein interaction.** Nature Biotechnology, v. 38, n. 9, p. 1073–1078, 2020. Nature Research.

TAY, M. Z.; POH, C. M.; RÉNIA, L.; MACARY, P. A.; NG, L. F. P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. June, p. 363–374, 2020. Springer US. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41577-020-03111-8>>.

TEIMURY, A.; KHAMENEH, M. T.; KHALEDI, E. M. Major coagulation disorders and parameters in COVID-19 patients. **European Journal of Medical Research**, v. 27,

n. 1, p. 1–10, 2022. BioMed Central. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40001-022-00655-6>>. .

VIANA, R.; MOYO, S.; AMOAKO, D. G.; et al. Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. **Nature**, v. 603, n. December 2021, p. 679–706, 2022. Springer US.

V'KOVSKI, P.; KRATZEL, A.; STEINER, S.; STADLER, H.; THIEL, V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS- CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, p. 155–170, 2020.

VON RHEIN, C.; SCHOLZ, T.; HENSS, L.; et al. **Comparison of potency assays to assess SARS-CoV-2 neutralizing antibody capacity in COVID-19 convalescent plasma**. Journal of Virological Methods, v. 288, 2021. Elsevier B.V.

WENDEL, S.; KUTNER, J. M.; MACHADO, R.; et al. **Screening for SARS-CoV-2 antibodies in convalescent plasma in Brazil: Preliminary lessons from a voluntary convalescent donor program**. Transfusion, v. 60, n. 12, p. 2938–2951, 2020. Blackwell Publishing Inc.

WORLD HEALTH ORGANIZATION(WHO). **Advice on the use of masks the community , during home care and in health care settings in the context of the novel coronavirus (2019-nCoV) outbreak Interim guidance**. 2020. Available at: www.WHO/nCov/IPC_Masks/2020.1>.

WU, C.; CHEN, X.; CAI, Y.; et al. Risk Factors Associated with Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients with Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA Internal Medicine**, v. 180, n. 7, p. 934–943, 2020.

YIGIT, M.; OZKAYA-PARLAKAY, A.; COSGUN, Y.; et al. Should a third booster dose be scheduled after two doses of CoronaVac? A single-center experience. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 1, p. 287–290, 2022.

YU, X.; ZHANG, X.; ZHAO, B.; et al. Intensive cytokine induction in pandemic H1N1 influenza virus infection accompanied by robust production of IL-10 and IL-6. **PLoS ONE**, v. 6, n. 12, p. 1–9, 2011.

YU, W.-L.; TOH, H. S.; LIAO, C.-T.; CHANG, W.-T. Cardiovascular Complications of COVID-19 and Associated Concerns : A Review. **Acta Cardiol Sin**, v. 37, n. 1, p. 9–17, 2021.

YUE, L.; ZHOU, J.; ZHOU, Y.; et al. Antibody response elicited by a third boost dose of inactivated SARS-CoV-2 vaccine can neutralize SARS-CoV-2 variants of concern. **Emerging Microbes and Infections**, v. 10, n. 1, p. 2125–2127, 2021.

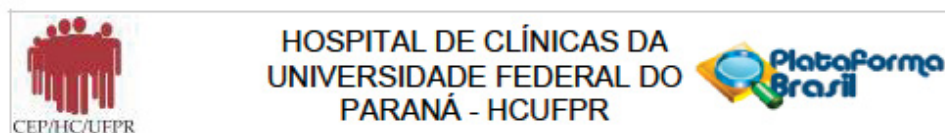
ZANZA, C.; ROMENSKAYA, T.; MANETTI, A. C.; et al. Cytokine Storm in COVID-19 : Immunopathogenesis and Therapy. **Medicina**, v. 58, p. 1–14, 2022.

ZHANG, Y.; ZENG, G.; PAN, H.; et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised,

double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 21, n. 2, p. 181–192, 2021. Elsevier Ltd. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30843-4](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30843-4)>.

ZHU, X.; GEBO, K. A.; ABRAHAM, A. G.; et al. Dynamics of inflammatory responses after SARS-CoV-2 infection by vaccination status in the USA: a prospective cohort study. **The Lancet Microbe**, v. 4, n. 9, p. e692–e703, 2023.

ANEXO 1 – PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM PACIENTES COM COVID-19 COM ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 COMPLETO E HOSPITALIZADOS NO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (CHC-UFPR)

Pesquisador: Sonia Mara Raboni

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 53891121.0.0000.0096

Instituição Proponente: Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.251.853

Apresentação do Projeto:

Título: AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM PACIENTES COM COVID-19 COM ESQUEMA VACINAL ANTI-SARS-COV-2 COMPLETO E HOSPITALIZADOS NO COMPLEXO HOSPITAL DE CLÍNICAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ (CHC-UFPR)

Pesquisador Principal: Sonia Mara Raboni

Colaborador(es) ou Equipe de Pesquisa: Meri Bordignon Nogueira, Gislaine Custodio e Laura Holtman Ferreira, Bruna Amaral Lapinski, Vitor Loureiro Dias, Diego da Silva Magatão, Francine Teixeira, Betina Mendez Alcantara Gabardo e Susanne Edinger Pereira

Local de Realização: Unidade de Infectologia do CHC-UFPR, Laboratório de Virologia do CHC-UFPR e Laboratório de Imunoquímica do CHC-UFPR

Instituição de Ensino: Universidade Federal do Paraná

Finalidade acadêmica: Mestrado

Endereço: Rua Gal. Camello, 181
Bairro: Alto da Glória **CEP:** 80.060-900
UF: PR **Município:** CURITIBA
Telefone: (41)3360-1041 **Fax:** (41)3360-1041 **E-mail:** cep@hc.ufpr.br

**ANEXO 2 – LINKS DE IDENTIFICAÇÃO DAS SEQUÊNCIAS
NUCLEOTÍDICAS DAS AMOSTRAS DOS PACIENTES INCLUÍDOS NO ESTUDO**

1

Ordem	Identificação GISAID
1	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13474/2022
2	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13475/2022
3	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13476/2022
4	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13477/2022
5	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13478/2022
6	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13479/2022
7	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13480/2022
8	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13481/2022
9	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13482/2022
10	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13483/2022
11	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13484/2022
12	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13485/2022
13	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13486/2022
14	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13487/2022
15	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13488/2022
16	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13489/2022
17	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13490/2022
18	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13492/2022
19	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13493/2022
20	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13494/2022
21	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13495/2022
22	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13499/2022
23	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13501/2022
24	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13502/2022
25	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-13503/2022
26	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34554/2020
27	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34555/2020
28	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34556/2020
29	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34557/2020
30	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34558/2020
31	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34559/2020
32	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34560/2020
33	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34562/2020
34	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34565/2020
35	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-34566/2020
36	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68433/2021
37	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68434/2021
38	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68435/2021
39	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68437/2021
40	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68438/2021
41	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68439/2021
42	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68440/2021
43	hCoV-19/Brazil/PR-FIOCRUZ-68441/2021