



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**JOAQUIM CESAR DO NASCIMENTO SOUSA JÚNIOR**

**PERFIL POPULACIONAL DE SOROCONVERSÃO DE IgG ANTI-SARS-CoV-2 ENTRE 2020 E 2024 E AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DOS IMPACTOS IMUNE-HUMORAIS DO SARS-CoV-2 EM UM SEGMENTO DE DOADORES DE SANGUE**

**FORTALEZA**

**2024**

JOAQUIM CESAR DO NASCIMENTO SOUSA JÚNIOR

**PERFIL POPULACIONAL DE SOROCONVERSÃO DE IgG ANTI-SARS-CoV-2 ENTRE 2020 E 2024 E AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DOS IMPACTOS IMUNE-HUMORAIS DO SARS-CoV-2 EM UM SEGMENTO DE DOADORES DE SANGUE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia Geral

Orientador: Prof. Dr. Fábio Miyajima

FORTALEZA

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

---

- J1p Júnior, Joaquim Cesar do Nascimento Sousa.  
Perfil Populacional de Soroconversão de IgG anti-SARS-CoV-2 entre 2020 e 2024 e avaliação prospectiva dos impactos imune-humorais do SARS-CoV-2 em um segmento de doadores de sangue / Joaquim Cesar do Nascimento Sousa Júnior. – 2024.  
129 f. : il. color.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2024.  
Orientação: Prof. Dr. Fabio Miyajima.
1. COVID-19. 2. Anticorpos. 3. Monitoramento. 4. Vacinação. 5. Neutralização. I. Título.  
CDD 615.1
-

JOAQUIM CESAR DO NASCIMENTO SOUSA JÚNIOR

**PERFIL POPULACIONAL DE SOROCONVERSÃO DE IgG ANTI-SARS-CoV-2 ENTRE 2020 E 2024 E AVALIAÇÃO PROSPECTIVA DOS IMPACTOS IMUNE-HUMORAIS DO SARS-CoV-2 EM UM SEGMENTO DE DOADORES DE SANGUE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Farmacologia.

Área de concentração: Farmacologia Geral

Orientador: Prof. Dr. Fábio Miyajima

Aprovado em: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Fabio Miyajima  
Universidade Federal do Ceará (UFC) / Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Ceará)

---

Dra. Dayane Alves Costa  
Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Ceará)

---

Dra. Caroline Pereira Bittencourt Passaes  
Instituto Pasteur / Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz Ceará)

Dedico este trabalho à memória de minha mãe, Débora Gomes Sousa, e de minhas avós, Maria José de Oliveira e Idelzuith do Nascimento Sousa, que com suas fortes luzes me guiaram até aqui.

Ao meu pai, César, e irmãos, Karla, Loíde e Isaias

A todas as vítimas diretas e indiretas da COVID-19

## AGRADECIMENTOS

A minha mãe, **Débora Gomes Sousa** (*in memorium*), pelo apoio constante e amor incondicional em todos os momentos da minha vida. Por todo suporte nos meus estudos e incentivo na carreira científica. Por todo o cuidado e exemplo de pessoa íntegra que és. Por sempre acreditar nos meus sonhos e nos meus objetivos. Por toda a compreensão e paciência. Sem a senhora, nada disso seria possível. És o maior exemplo de força, amor e determinação que eu conheço.

Ao meu pai, **Joaquim César do Nascimento Sousa**, por todo o apoio e firmeza em minha caminhada educacional. Por todo o incentivo, cuidado e zelo que tiveste. Por toda a compreensão, apoio e paciência. Sem o senhor, não teria conseguido chegar aqui.

Aos meus irmãos **Karla Regina, Loíde Gomes e Isaías César** e às minhas avós **Maria José** (*in memorium*) e **Idelzuith do Nascimento** (*in memorium*) por sempre estarem presentes na minha vida, contribuindo para que eu conseguisse chegar até aqui. Por todo apoio, amor e companheirismo.

Ao **Pedro Israel** por ter me ajudado a manter o equilíbrio nos momentos mais difíceis. Por todo o apoio, amor e cuidado que tiveste comigo. És uma coluna importante em minha vida e uma parte imprescindível da minha história. Por ser um exemplo vivo de força e resiliência. Sem você, eu não teria conseguido concluir esse trabalho.

Ao Professor Doutor **Fábio Miyajima** por ter me aceitado e me acolhido no laboratório de braços abertos. Por todas as oportunidades que a mim foram concedidas. Pelo acompanhamento, orientação e determinação em sempre fazer com que tudo dê certo. Por me incentivar a buscar o conhecimento, o aprimoramento das minhas habilidades e o aprendizado. Por ter acreditado em mim e me apoiado até aqui. Pela busca do suporte financeiro à pesquisa. Sem o senhor, a realização desse trabalho não seria possível.

À Doutora **Veridiana Miyajima**, por também ter me aceitado e me acolhido no laboratório. Por todos os conhecimentos trocados e compartilhados. Por toda a sua dedicação, coragem e força, que são fontes de inspiração para muitos. Por todas as oportunidades em mim confiadas. Pelo apoio imprescindível na minha caminhada profissional.

A **Alice Sabatino, Fernando Stehling e Cláudia Stutz** por todo o apoio e suporte em inúmeros processos para manter o laboratório, o grupo e essa pesquisa funcionando. Sem vocês, esse projeto não teria funcionado

Ao mestrando e companheiro **Cléber Furtado** por todo o companheirismo no mestrado. Grato por todos os momentos de descontração e de troca de conhecimentos. Por todas as vezes que esteve comigo no recrutamento, que me ajudou nos experimentos e nas análises estatísticas desse trabalho. Meu mais sincero obrigado.

À aluna de Iniciação Científica **Débora Maria** por todo o esforço e empenho em me acompanhar em diversos momentos do trabalho. Grato pelo seu zelo, foco e dedicação em ajudar em vários momentos para o desenvolvimento desse projeto.

Ao **Instituto Pró-Sangue e colaboradores** pela ideia inovadora de desenvolvimento do projeto multicêntrico. Por todo o suporte e contribuição com a pesquisa de qualidade em momentos difíceis de pandemia.

À diretora do HEMOCE **Luciana Barros** e aos coordenadores **Luany Elvira** e **Franklin** por terem viabilizado o fluxo do recrutamento e terem permitido que grande parte do processo experimental ocorresse nas dependências do HEMOCE. Grato por toda a contribuição para com esta pesquisa.

Às técnicas da triagem do CDC **Érica Moura, Maria Josélia, Daniele Gomes** e **Francisca Eulany** por sempre auxiliarem em tudo que estava ao alcance de vocês. Por terem me ajudado a usar melhor o *Softlab* e por serem solícitas em ajudar com a entrega de nossas amostras aos setores. Por todo o clima descontraído que criam no trabalho.

Aos profissionais do setor do Hemograma, **Maria Albertina, Antônia Ivoneide, Lucas Brito, Regina Lúcia** e **Neto** por todos os exames de hemograma realizados. Por toda a ajuda fornecida para o enriquecimento desse trabalho. Por sempre serem solícitos para com o desenvolvimento desse projeto.

Aos profissionais do setor da Hemoglobina **Sivoney Sena, Amanda de Oliveira, Auristela Paiva, Flávia Martis, Samira** e **Leidinha** por terem incluído com muito zelo e destreza em suas rotinas o processo de separação de amostras para o banco de sangue dessa pesquisa. Por toda a ajuda fornecida.

Aos profissionais do setor da automação **Helayne Gomes, Benoely Pedrosa, Samantha Paiva, Maria do Socorro, Francimar Duarte** e **Sheila Cristina** por todos os exames bioquímicos realizados. Por todo o trabalho de testar e devolver as amostras utilizadas para a pesquisa. Por toda a contribuição e boa vontade em ajudar.

Aos que me emprestaram e doaram reagentes e insumos **Clara Norões, Tie, Lavouisier Franklin, Raysa Laranjeira** e **Maria Luíza** por toda a contribuição e boa fé depositada em mim e nessa pesquisa. Por todo o apoio e força. Por sempre se mostrarem solícitos em ajudar em momentos decisivos.

Aos profissionais do setor da Citometria **Mabel Fernandes, Rebeca Brasil, Luisa Andreia, Hélio** e **Juliana** por todo o apoio e contribuição na execução desse trabalho. Pelo empréstimo dos reagentes para as etapas de teste. Por sempre se mostrarem solícitos.

Aos profissionais do setor da Sorologia do CDC **Joelma, Ana Paula** e **Wan Baster** por auxiliarem nos testes de anticorpos específicos contra o SARS-CoV-2. Por toda a simpatia, auxílio e boa vontade em ajudar. Por toda a contribuição para a finalização desse trabalho.

A todos os profissionais e colaboradores do setor da coleta dos doadores **Ana Carolina, Luíza, Claudinete, Fabiana, Mirella, Maria Neusa, Juliana, Lucimar, Eliane, Fernando, Maria das Dores, Ana Beatriz, Gleiciane, Juliane, Luzia, Liliane, Francisca, Maria Leide, Maria Velede, Návyła, Wessly, Maria Rita** e **Petrus** por todo o apoio no processo do recrutamento. Pela boa vontade e disposição em ajudar. Por terem incluído o fluxo dessa pesquisa com tanta maestria na rotina. Por manterem o ambiente

de trabalho o mais agradável possível. Por todas as coletas de doadores. Pelo nobre trabalho que realizam.

Aos profissionais do setor da Sorologia do doador **Elaine Ximenes, Ana Lúcia, Anna Paula e Cícera Antônia** por toda a ajuda na entrega das amostras de soro dos doadores de sangue. Por todo o entusiasmo e auxílio prestado para ajudar na execução dessa pesquisa.

Às profissionais do setor do NAT do doador **Richeyla Kelly, Maria Júlia e Nathália Moreira** por todas as amostras fornecidas para o banco dessa pesquisa. Por todo o entusiasmo e carisma. Pela torcida para que a pesquisa fosse concluída com sucesso.

À doutora **Dayane Alves** por ter sido uma base imprescindível para a finalização do trabalho. Por toda a ajuda fornecida para a conclusão do projeto. Por ser um exemplo de profissional. Por todo o tempo despendido na execução, treinamento e testes de protocolos a fim de que eu atingisse meus objetivos.

Aos profissionais do ACME Lab, que também se tornaram amigos e colegas nessa jornada **Mayra, Cecili, Carol, Luzia, Joyce, Ellen, Letícia, Luísa, Lucas Delerino, Lucas, Allyson, Allan, Arlene, Pedro e Ticiane** pelo companheirismo e por toda a ajuda e auxílio a mim fornecidos durante o período de execução da pesquisa. Pelas caronas, pelo coleguismo, pelos conselhos e por sempre procurarem criar um ambiente amistoso no trabalho. Pelo exemplo de inspiração como profissionais que cada um representa.

Aos demais amigos que o ACME Lab me forneceu **Jamille, Bruna, Leonardo e Thais Ferreira** por todo o companheirismo, conselhos, auxílios e ajudas durante minha jornada no laboratório. Por serem profissionais exemplares. Pelo acolhimento em muitos momentos de necessidade. Por todo o conhecimento compartilhado e incentivado.

À mestre **Thais Costa** pela amizade desde o início da graduação, por todo o peso e contribuição que teve na minha formação, por toda a ajuda nas disciplinas. Por ser um exemplo para mim de dedicação, profissional, amiga e companheira de laboratório. Por ser uma pessoa disciplinada e proativa, que me inspira a sempre querer ser melhor. Pelo acolhimento nos momentos mais difíceis da minha caminhada. Pela contribuição na correção da escrita deste trabalho.

À doutora **Andressa Almeida** por estar sendo a melhor companheira de casa que eu poderia ter. Por ser uma amiga fantástica. Pelo exemplo de pessoa dedicada que és, além de grande profissional. Por todos os conselhos e pelo acolhimento que tive ao decidir me mudar. Pelo seu coração enorme de bondoso.

Ao **Davi Alves**, que sempre se mostrou disposto a ajudar nos mais variados pormenores da execução desse projeto, contribuindo com bastante zelo, proatividade e organização nas demandas.

Aos demais amigos e colegas do Lab Covid **Aurilene, Nívian, Fernanda, Anamaria, Matheus de Souza, Nicole, Amanda, Maísa, Beatriz, Andrielly e Gabi Cidrão** por se fazerem presentes nesta caminhada. Por toda a ajuda e conhecimento trocado. Por toda competência e exemplo de profissionais que se tornaram para mim. Por toda brincadeiras e momentos de descontração fornecidos.

Aos amigos do colégio Lourenço Filho, **João Pedro, Letícia, Lucas, Mariana, Rayssa e Renan**, que, mesmo sem entender os pormenores do trabalho, forneceram apoio e acreditaram nos meus sonhos. Por todas as ocasiões em que estivemos juntos. Pelo companheirismo em muitos momentos. Por fazerem parte da minha vida e terem escolhido continuar caminhando comigo, mesmo depois do Ensino Médio.

Aos meus grandes amigos **Mikaelly e Jessé**, por sempre apoiarem e acreditarem na realização dos meus sonhos. Pelo companheirismo e força para que eu atingisse meus objetivos. Por todos os momentos em que estivemos juntos. Por fazerem parte da minha vida em seus mais variados aspectos.

Ao meu grande amigo **Lucas Lopes** por ter sido minha força em diversas ocasiões desse mestrado. Pelo companheirismo no período em que estive no laboratório. Por todos os conselhos e conhecimentos trocados. Por todas as brincadeiras. Por todo o suporte fornecido. Por ter me ajudado a crescer bastante como pessoa.

Ao meu grande amigo **Artur Hermano** por ter me fornecido apoio no momento que mais precisei. Por ser um ser humano incrível e um amigo inigualável. Pelo seu bom humor e pelos seus valiosos conselhos. Por ter me acompanhado na realização de um sonho. Por todos os conhecimentos trocados. Por ser um exemplo para mim. Por ter me ajudado a crescer e amadurecer em diferentes aspectos.

Aos demais amigos e colegas, **Markos, Vanessa, Susy, Livia, Luísa, Caio, Ítalo, Maria Eduarda, Karina, Estevam, Rafael, Iago, Matheus e Vangleison** agradeço por tudo que compartilhamos ao longo dessa jornada e pelo impacto positivo que cada um gerou em mim.

Ao **Inova Brasil** pelo apoio financeiro essencial para o desenvolvimento desse trabalho.

À Dra. **Mariana Gandini** do IOC por toda ajuda e contribuições, pelos reagentes doados para contribuir com a conclusão deste trabalho em um momento de grande urgência. Meu muito obrigado!

Ao teatro e a todos que conheci durante minha caminhada nesse universo. As experiências mudaram minha vida e trouxeram luz no momento que eu mais precisei. Sempre serei grato à arte e ao seu impacto positivo em minha vida.

Aos médicos, enfermeiros, fisioterapeutas, técnicos e demais profissionais da saúde, familiares, amigos e colegas de trabalho, que cuidaram, oraram, rezaram e zelaram pela vida de diversas pessoas que sofrem com a COVID-19, meus mais sinceros e profundos agradecimentos.

A todos os profissionais que compõem a Pós-Graduação em Farmacologia por todo o engajamento em tornar a experiência do mestrado única.

A todos os professores do Bacharelado em Biotecnologia e antigos orientadores e coorientadores pelos conhecimentos adquiridos.

A todos que torceram ou contribuíram para a realização deste trabalho, muito obrigado!

Long Story Short, I survived  
(Taylor Swift)

## RESUMO

A investigação quantitativa e qualitativa do perfil de resposta humoral contra o SARS-CoV-2 (SC2) tem sido de suma relevância para avaliação dos níveis de exposição, reinfecção e de soroconversão aos antígenos virais durante a pandemia. Este estudo avaliou um recorte de 323 doadores de sangue do HEMOCE, cuja seleção ocorreu durante o período pandêmico (2020-2022) e pós-pandêmico (setembro de 2023 e abril de 2024). O estudo objetivou investigar associações do perfil imunológico humoral em subgrupos de doadores de sangue do município de Fortaleza, entre 2020 e 2024, correlacionando os efeitos da pandemia do SC2 com o histórico de infecção e vacinação dos doadores. Para isso, foram utilizados dois testes específicos contra o SC2 - IgG anti-N e anti-S séricos. As análises nos níveis de IgG anti-N, entre os períodos pandêmico (2020 e 2021) versus pós-pandêmico apresentaram aumentos significativos ( $p < 0,05$ ), reflexo de uma maior taxa de infecções durante os primeiros anos de pandemia. De forma análoga, observou-se uma tendência de declínio nos níveis de IgG anti-S entre 2022 e o período pós-pandêmico. Para a análise pareada de vacinação, os participantes foram classificados em grupos e subgrupos de acordo com o registro de doses de vacinação, sendo observado uma elevação significativa nos títulos de IgG anti-S entre o estado sem registro de vacinação (“Não Imunizado”) e os demais estados vacinados ( $p < 0,001$ ). Houve diferenças entre os subgrupos “Vacinados (D1-D4)” vs. “Bivalente” e “Doses iniciais (D1-D2)” vs. “Bivalente” ( $p < 0,001$ ). Para as análises transversais, os níveis de IgG anti-S se associaram com a maioria das variáveis autodeclaradas ( $p < 0,05$ ), como a quantidade de infecções reportadas, o intervalo desde a última infecção, o estado vacinal e os índices derivados do questionário de saúde mental, relacionado à resiliência e à depressão. Aos doadores que declararam ter tido COVID-19, 31,4% relataram sintomas persistentes, com maior prevalência de “Perda de memória” para os grupos “Médio” (31,8%) e “Alto” (25%) de IgG anti-S. A fim de avaliar os efeitos da neutralização de anticorpos, foi realizado um ensaio de neutralização PRNT<sub>90</sub> contra as subvariantes do SC2 - GK.1 e JN.1 - que apresentaram significativa associação com os níveis de IgG anti-S e IgG anti-N ( $p < 0,05$ ;  $r > 0,60$ ), cujos valores de corte foram estimados por análises de sensibilidade/especificidade (IgG anti-S  $> 50.165,14$  BAU/mL; IgG anti-N  $> 1,03$  Index (S/C)). De forma moderada, os níveis elevados de leucócitos e linfócitos também se associaram com a atividade neutralizante ( $p < 0,05$ ;  $r > 0,40$ ). Não houve correlações dos níveis de IgA, IgE, IgG e IgM totais com os resultados de PRNT<sub>90</sub>, nem entre IgG total e IgG anti-S. Esses resultados reiteram a importância das investigações soropidemiológicas a nível populacional, tanto para o monitoramento dos níveis de exposição/reinfecção, como de evasão imunológica vacinal, além de servirem de norteadores para estratégias de prevenção e intervenção de agravos emergentes, tanto em um contexto pandêmico, como pós-pandêmico.

Palavras-Chave: COVID-19; anticorpos; monitoramento; vacinação; neutralização.

## ABSTRACT

The quantitative and qualitative investigation of the humoral response profile against SARS-CoV-2 (SC2) has been of paramount importance for evaluating exposure levels, reinfection, and seroconversion to viral antigens during the pandemic. This study evaluated a sample of 323 blood donors from HEMOCE, selected during the pandemic period (2020–2022) and post-pandemic period (September 2023 and April 2024). The study aimed to investigate associations of the humoral immune profile in subgroups of blood donors from the city of Fortaleza, between 2020 and 2024, correlating the effects of the SC2 pandemic with the donors' infection and vaccination history. Two specific tests against SC2 – anti-N and anti-S serum IgG – were used for this purpose. The analysis of anti-N IgG levels, comparing the pandemic period (2020 and 2021) with the post-pandemic period, showed significant increases ( $p < 0.05$ ), reflecting a higher rate of infections during the early years of the pandemic. Similarly, a trend of decline in anti-S IgG levels was observed between 2022 and the post-pandemic period. For the paired vaccination analysis, participants were classified into groups and subgroups according to their vaccination dose records, showing a significant increase in anti-S IgG titers between the unvaccinated state (“Non-Immunized”) and the vaccinated states ( $p < 0.001$ ). Differences were observed between the subgroups “Vaccinated (D1-D4)” vs. “Bivalent” and “Initial Doses (D1-D2)” vs. “Bivalent” ( $p < 0.001$ ). For the cross-sectional analyses, anti-S IgG levels were associated with most self-reported variables ( $p < 0.05$ ), such as the number of reported infections, time since the last infection, vaccination status, and indices derived from the mental health questionnaire related to resilience and depression. Among the donors who reported having had COVID-19, 31.4% reported persistent symptoms, with the highest prevalence of “Memory Loss” in the “Medium” (31.8%) and “High” (25%) anti-S IgG groups. To evaluate the effects of antibody neutralization, a PRNT90 neutralization assay was performed against SC2 subvariants - GK.1 and JN.1 - which showed significant association with anti-S and anti-N IgG levels ( $p < 0.05$ ;  $r > 0.60$ ), with cutoff values estimated by sensitivity/specificity analysis (IgG anti-S  $> 50,165.14$  BAU/mL; IgG anti-N  $> 1.03$  Index (S/C)). Moderately, elevated leukocyte and lymphocyte levels were also associated with neutralizing activity ( $p < 0.05$ ;  $r > 0.40$ ). No correlations were found between total IgA, IgE, IgG, and IgM levels with PRNT90 results, nor between total IgG and anti-S IgG. These results emphasize the importance of seroepidemiological investigations at the population level, both for monitoring exposure/reinfection levels and vaccine-induced immune evasion, as well as serving as guides for prevention and intervention strategies for emerging diseases, both in a pandemic and post-pandemic context.

Keywords: COVID-19, antibodies, monitoring, vaccination, neutralization.

## RÉSUMÉ

L'investigation quantitative et qualitative du profil de réponse humorale contre le SARS-CoV-2 (SC2) a été d'une grande importance pour l'évaluation des niveaux d'exposition, de réinfection et de séroconversion aux antigènes viraux pendant la pandémie. Cette étude a évalué un échantillon de 323 donneurs de sang du HEMOCE, sélectionnés pendant la période pandémique (2020-2022) et post-pandémique (de septembre 2023 à avril 2024). L'objectif de l'étude était d'étudier les associations du profil immunologique humorale dans des sous-groupes de donneurs de sang de la ville de Fortaleza, entre 2020 et 2024, en corrélant les effets de la pandémie de SC2 avec l'historique d'infection et de vaccination des donneurs. Deux tests spécifiques contre le SC2 – IgG anti-N et anti-S sériques – ont été utilisés à cet effet. L'analyse des niveaux d'IgG anti-N, entre les périodes pandémique (2020 et 2021) et post-pandémique, a montré des augmentations significatives ( $p < 0,05$ ), reflétant un taux plus élevé d'infections pendant les premières années de la pandémie. De manière similaire, une tendance à la diminution des niveaux d'IgG anti-S a été observée entre 2022 et la période post-pandémique. Pour l'analyse jumelée de la vaccination, les participants ont été classés en groupes et sous-groupes en fonction de l'enregistrement des doses de vaccination, et une élévation significative des titres d'IgG anti-S a été observée entre l'état sans enregistrement de vaccination ("Non immunisé") et les autres états vaccinés ( $p < 0,001$ ). Des différences ont été observées entre les sous-groupes « Vaccinés (D1-D4) » vs. « Bivalent » et « Doses initiales (D1-D2) » vs. « Bivalent » ( $p < 0,001$ ). Pour les analyses transversales, les niveaux d'IgG anti-S ont été associés à la plupart des variables autodéclarées ( $p < 0,05$ ), telles que le nombre d'infections rapportées, l'intervalle depuis la dernière infection, l'état vaccinal et les indices dérivés du questionnaire de santé mentale, liés à la résilience et à la dépression. Parmi les donneurs ayant déclaré avoir eu la COVID-19, 31,4% ont signalé des symptômes persistants, avec une prévalence plus élevée de « Perte de mémoire » pour les groupes « Moyen » (31,8%) et « Élevé » (25%) d'IgG anti-S. Afin d'évaluer les effets de la neutralisation des anticorps, un essai de neutralisation PRNT90 contre les sous-variants du SC2 - GK.1 et JN.1 - a été réalisé, et a montré une association significative avec les niveaux d'IgG anti-S et IgG anti-N ( $p < 0,05$ ;  $r > 0,60$ ), les valeurs de coupure ayant été estimées par des analyses de sensibilité/spécificité (IgG anti-S  $> 50\ 165,14$  BAU/mL; IgG anti-N  $> 1,03$  Index (S/C)). De manière modérée, des niveaux élevés de leucocytes et de lymphocytes ont également été associés à l'activité neutralisante ( $p < 0,05$ ;  $r > 0,40$ ). Aucune corrélation n'a été observée entre les niveaux totaux d'IgA, IgE, IgG et IgM avec les résultats de PRNT90, ni entre IgG total et IgG anti-S. Ces résultats soulignent l'importance des investigations séroépidémiologiques à l'échelle de la population, tant pour le suivi des niveaux d'exposition/réinfection que pour l'évasion immunologique induite par la vaccination, en plus de servir de guide pour les stratégies de prévention et d'intervention face aux maladies émergentes, tant dans un contexte pandémique que post-pandémique.

Mots-clés: COVID-19 ; anticorps ; suivi ; vaccination ; neutralisation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Relação de <i>Ortocorovirinae</i> com os respectivos hospedeiros.....	25
Figura 02	Classificação cladística dos Coronavírus humanos.....	24
Figura 03	Casos positivos e negativos de COVID-19 registrados em Fortaleza entre março de 2020 e junho de 2024, com destaque para as principais variantes causadoras de ondas pandêmicas na região.....	31
Figura 04	Etapas de entrada do SC2 nas células humana.....	35
Figura 05	Principais imunoenaios baseados em anticorpos.....	53
Figura 06	Desenho experimental do estudo.....	58
Figura 07	<i>Heatmap</i> da frequência de amostras com IgG anti-N em relação aos grupos e aos períodos.....	67
Figura 08	Avaliação das titulações de anticorpos IgG anti-N contra o SC2 entre (A) 2020 e 2021, (B) 2020 e pós-pandemia e (C) 2021 e pós-pandemia.....	68
Figura 09	<i>Heatmap</i> da frequência de amostras com IgG anti-S em relação aos grupos e aos períodos.....	70
Figura 10	Avaliação das titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 entre (A) 2021 e 2022, (B) 2021 e pós-pandemia e (C) 2022 e pós-pandemia.....	70
Figura 11	Avaliação pareada entre as amostras dos anos de 2021, 2022 e o período pós-pandemia com o acompanhamento correspondente de cada participante do estudo ao longo dos anos pelo box-plot com linhas.....	71
Figura 12	Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal, com grupos generalizados, que se relacionam em (A) “Não imunizados” e “Vacinação” e (B) “Vacinação” e “Bivalente” .....	73
Figura 13	Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal dos participantes nos grupos (A) “Não imunizados” e “Doses iniciais”, (B) “Doses iniciais” e “Doses de reforço”, (C) “Doses iniciais” e “Bivalente”, (D) “Não imunizados” e “Bivalente” e (E) “Doses de reforço” e “Bivalente” .....	74
Figura 14	Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de casos de infecção autodeclarada.....	75
Figura 15	Avaliação do impacto do número de casos autodeclarados de infecção por COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	76

Figura 16	Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o tempo em meses desde a última infecção autodeclarada.....	77
Figura 17	Avaliação do impacto do tempo desde a última infecção por COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	78
Figura 18	Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de doses vacinais contra a COVID-19 aplicadas.....	79
Figura 19	Avaliação do impacto do número de doses da vacinação nos grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	80
Figura 20	Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de consequências persistentes pós-COVID-19.....	81
Figura 21	Avaliação do impacto da quantidade de sintomas persistentes da COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	81
Figura 22	Frequência dos principais sintomas persistentes da COVID-19 relatados pelos doadores de sangue recrutados e divididos entre os grupos estratificados por títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2.....	82
Figura 23	Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e a saúde mental dos doadores recrutados.....	83
Figura 24	Avaliação do impacto do índice de saúde mental nos grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	84
Figura 25	Curvas ROCs (sensibilidade x 1-especificidade) usadas para a determinação dos pontos de corte ótimos para assumir uma neutralização das linhagens GK.1 e JN.1 $\geq 90\%$ a partir das variáveis – Curvas ROCs (sensibilidade x 1-especificidade) usadas para a determinação dos pontos de corte ótimos para assumir uma neutralização das linhagens GK.1 e JN.1 $\geq 90\%$ a partir das variáveis IgG anti-S contra o SC2 (A - GK.1 e E - JN.1), IgG anti-N contra o SC2 (B - GK.1 e F - JN.1), contagem de leucócitos (C – GK.1 e G – JN.1) e a contagem de linfócitos (D – GK.1 e H – JN.1).....	89
Figura 26	Correlação entre os títulos de IgG total e IgG anti-S com a representação quantitativa dos resultados em histogramas.....	90

## LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Resumo dos principais marcadores imunológicos durante a infecção por SC2.....	40
Tabela 02	Principais Variantes de preocupações (VOCs) e de Interesse (VOI) reconhecidas pela OMS.....	42
Tabela 03	Principais vacinas existentes contra o SC2 e tipos de tecnologias utilizadas.....	48
Tabela 04	Interpretação dos resultados de acordo com os valores de anticorpos IgG anti-SC2.....	59
Tabela 05	<i>Scores</i> atribuídos às respostas declaradas pelos doadores durante o recrutamento para a avaliação da Capacidade Funcional, Saúde Mental e Vitalidade.....	60
Tabela 06	Quantitativos de amostras referentes a cada grupo de amostras de IgG anti-N do estudo com seus respectivos valores de mediana.....	66
Tabela 07	Quantitativos das amostras testadas para IgG anti-N e estratificados por períodos.....	67
Tabela 08	Quantitativos de amostras referentes a cada grupo de amostras de IgG anti-S do estudo com seus respectivos valores de mediana.....	69
Tabela 09	Quantitativos das amostras testadas para IgG anti-S e estratificados por períodos.....	69
Tabela 10	Quantitativos de amostras com testes de IgG anti-S realizados por grupos de titulações de anticorpos e status vacinal.....	72
Tabela 11	Regressão logística multivariada das variáveis que apresentaram diferenças estatísticas na análise univariada com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S.....	85
Tabela 12	– Análises de correlação de Spearman entre os valores de PRNT $\geq 90$ para GK.1 e JN.1 e os fatores de associação com a resposta imune-humoral dos doadores de sangue recrutados.....	85
Tabela 13	Valores de corte e suas respectivas sensibilidades e especificidades para a determinação de um PRNT $\geq 90$ para cada parâmetro associado à resposta imune-humoral analisado.....	87
Tabela 14	Definição de cada parâmetro utilizado para as análises de citometria de fluxo.....	107

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

++ssRNA	RNA de fita única positiva
APC	Células Apresentadoras de Antígenos, do inglês <i>Antigen-Presenting Cells</i>
BAU	Unidade de Ligação ao Anticorpo, do inglês <i>Binding Antibody Units</i>
BDDS	Boletim Diário de Doações de Sangue
cDNA	DNA complementar
CMIA	Imunoensaio de micropartícula de quimioluminescência, do inglês <i>Chemiluminescent microparticle immunoassay</i>
CMSP	Células Mononucleares do Sangue Periférico
CONEP	Conselho Nacional de Ética em Pesquisa
CoV	Coronavírus
DAMP	Padrão Molecular Associado ao Dano
DLR	Domínio de Ligação do Receptor
DNT	Domínio N-Terminal
E	Proteína Envelope do SC2
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
FACS	Do inglês <i>Fluorescent Activated Cell Sorting</i>
FSC	Do inglês <i>Forward Scatter</i>
FDA	Do inglês <i>Federal Drug Administration</i>
FMO	Fluorescência Menos Um, do inglês <i>Fluorescence Minus One</i>
GLDH	L-glutamato desidrogenase, do inglês <i>Glutamate Dehydrogenase</i>
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
hCoV	Coronavírus Humanos
HE	Hemaglutinina Esterase
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance,
IFN	Interferon
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
LFIA	Imunoensaio de Fluxo Lateral, do inglês <i>Lateral-Flow Immunoassay</i>
M	Membrana
MERS-CoV	Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio
N	Nucleocapsídeo
NIH	Instituto Nacional de Saúde, do inglês <i>National Institute of Health</i>
NSP	Proteínas não Estruturais, do inglês <i>Non Structural Proteins</i>
ORF	Janela Aberta de Leitura, do inglês <i>Open Reading Frames</i>
PAMP	Padrão Molecular Associado a Patógenos, do inglês <i>Pathogen-associated molecular patterns</i>
PBS	Tampão Fosfato-Salino, do inglês <i>Phosphate Buffered Saline</i>
PCR	Proteína C-Reativa
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RdRp	RNA polimerase dependente de RNA
Ro	Número Básico de Reprodução Estimado
S	Proteína Espícula do SC2, do inglês <i>Spike protein</i>
SC2	SARS-CoV-2
SFB	Soro Fetal Bovino
SPIA	Imunoensaio de Fase Sólida, do inglês <i>Solid-Phase Immunoassays</i>
SRAA	Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona

SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SSC	Do inglês <i>Side Scatter</i>
TLR	Receptores Toll-like, do inglês <i>Toll-like Receptors</i>
TNF	Fator de Necrose Tumoral, do inglês <i>Tumor Necrosis Factor</i>
VCM	Volume Corpuscular Médio
VHS	Velocidade de Hemossedimentação
VOC	Variante de Preocupação, do inglês <i>Variant of Concern</i>
VOI	Variante de Interesse, do inglês <i>Variant of Interest</i>
VUM	Variante Sob Monitoramento, do inglês <i>Variant Under Monitoring</i>
ULR	Unidades de Luz Relativa

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>23</b>
2.1. Endemias, Surtos, Epidemias e Pandemias .....	23
2.2 Agente Etiológico de Infecções Respiratórias .....	24
2.2.1 Caracterização e Evolução do Coronavírus .....	24
2.2.2 Origem e caracterização do SC2 como novo Coronavírus humano.....	27
2.2.3 Processo de propagação e entrada do SC2 nas células humanas .....	29
2.3 Impactos da pandemia de COVID-19 no Brasil .....	31
2.3.1 A pandemia da COVID-19 no Ceará .....	33
2.4 Aspectos Clínicos da COVID-19.....	35
2.4.1 A complexidade da resposta imunológica durante a progressão da COVID-19 .....	37
2.5 A evolução do SC2 e o surgimento das Variantes de Preocupação.....	41
2.5.1 Primeiras VOCs.....	42
2.5.2 VOC Ômicron .....	43
2.6 Vacinação contra a COVID-19.....	45
2.6.1 Vacinação no Brasil .....	48
2.7 Farmacoterapia de tratamento contra a COVID-19.....	49
2.8 Testagem diagnóstica para COVID-19.....	50
2.9 População de doadores de sangue no contexto da pandemia da COVID-19.....	54
2.9.1 População de doadores de sangue no Brasil.....	54
2.9.2 Impacto da pandemia da COVID-19 na doação de sangue no Ceará .....	54
2.10 Relevância do Estudo.....	55
<b>3. OBJETIVOS .....</b>	<b>57</b>
3.1 Objetivo Geral.....	57
3.2 Objetivos Específicos .....	57
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>58</b>
4.1 Aspectos éticos .....	58
4.2 Tipo de estudo e desenho experimental .....	58
4.3 Processamento inicial das amostras de doadores de sangue a partir de um estudo multicêntrico .....	59
4.3.1 Interpretação de resultados retrospectivos .....	59
4.4 Obtenção de amostras no período pós-pandemia.....	60

4.4.1. Recrutamento de doadores e obtenção de dados .....	60
4.4.2. Coleta de amostras e critérios de exclusão .....	61
4.5. Hemograma para avaliação do número de leucócitos e linfócitos.....	62
4.6 Testes de neutralização de redução de placa para as subvariantes GK.1 e JN.1 do SC2.....	62
4.7 Processamento das amostras por testagem de anticorpos específicos anti-SC2... 63	
4.8 Processamento das amostras para testes de anticorpos totais .....	63
4.9 Separação de células mononucleares do sangue periférico .....	63
4.9.2 Separação e criopreservação das CMSPs.....	64
4.10 Análises Estatísticas .....	64
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>66</b>
5.1 Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-N .....	66
5.1.1 Associação pareada dos índices de IgG anti-N ao longo do tempo .....	66
5.2 Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S .....	68
5.2.1 - Associação pareada das análises de IgG Anti-S com o tempo .....	69
5.2.2 Avaliação pareada dos títulos de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal .....	71
5.3 A relação de fatores autodeclarados com a resposta humoral específica contra o SC2.....	74
5.3.1 Número de casos de infecção .....	74
5.3.2 Tempo desde a última exposição .....	76
5.3.4 Sintomas e consequências pós-COVID-19 .....	80
5.3.6 Impacto multivariado nos grupos estratificados por titulação de IgG anti-S. 84	
5.4 Análise de PRNT <sub>90</sub> para as linhagens GK.1 e JN.1 e a associação com fatores imune-humorais dos recrutados .....	85
5.4.1 Análise de correlação com fatores imunológicos dos doadores.....	85
5.4.2 Construção de linhas de corte para PRNT <sub>90</sub> contra as sublinhagens GK.1 e JN.1 .....	86
5.5 Relações e impactos entre as titulações de IgG total e IgG anti-S contra SC2.....	90
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>90</b>
<b>7. CONCLUSÃO.....</b>	<b>106</b>
<b>8. PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>107</b>
<b>9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>110</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A intensificação da agricultura industrial, a expansão das atividades de mineração e o aumento do comércio internacional de animais selvagens são exemplos de como o desenvolvimento industrial e as mudanças de hábitos humanos contribuem para a emergência, propagação e transmissão de novos patógenos (Sigler *et al.*, 2021). Essa relação é muito evidente no caso de vírus respiratórios, como o SARS-CoV, o MERS-CoV e o SARS-CoV-2 (SC2), causador da pandemia de COVID-19. Esta, destaca-se como a maior pandemia dos últimos 100 anos, superando, em número de mortes, a gripe espanhola de 1918. A taxa de fatalidade da COVID-19, estimada em 3%, é ainda consideravelmente maior que outras doenças infecciosas, como a gripe comum (0,1%) (OMS, 2020; Li; Song, 2023).

O genoma do SARS-CoV-2 (SC2) é similar ao de outros Coronavírus, com cerca de 30 kb de comprimento. Ele contém entre 10 e 14 janelas abertas de leitura (ORF, do inglês *Open Reading Frames*), que codificam duas grandes poliproteínas, que formam o complexo replicase-transcriptase do vírus (Malik, 2020); as quatro proteínas estruturais principais do vírus (S, M, E e N); além de cerca de 15 a 16 proteínas não estruturais (nsp) e de 5 a 8 proteínas acessórias, que não participam do processo de replicação viral (Algaissi *et al.*, 2020; Naqvi, 2020). A rápida evolução do vírus do SC2 levou ao surgimento das variantes de preocupação (VOC), como a Alfa, Beta, Gama, Delta e Ômicron. As VOCs se tornaram cada vez mais competentes para a infecção e a transmissão entre humanos, impactando significativamente a dinâmica da pandemia, o que exigiu medidas de controle mais rigorosas pelos governos do mundo todo (Buss *et al.*, 2021; Silva; Pena, 2021; Rede Genômica Fiocruz, 2024). Pela primeira vez na história, o surgimento e a transmissão de diferentes variantes foram acompanhados praticamente em tempo real, o que serviu de guia para os diferentes órgãos de saúde pública direcionarem ações contra a pandemia, anteciparem o recrudescimento de novas ondas e monitorarem a eficácia de vacinas e fármacos (Munnik *et al.*, 2021).

Um dos sistemas que sofreu grandes impactos com a pandemia no Brasil foi o da doação de sangue. Ele apresentou uma queda de 20% no número de doadores em 2020. Devido a isso, muitos estados acionaram o plano nacional de contingência para manter o estoque mínimo de 3 dias de material (Oliveira *et al.*, 2022). No caso de Fortaleza, o hemocentro coordenador, em conjunto com as unidades dos interiores do estado,

estabeleceu algumas medidas para manter a estabilidade do estoque de sangue no Ceará, tais como o agendamento *online* das doações e a realização de coletas externas. Com a implementação dessas estratégias, foi possível manter o estoque mínimo em todo o estado durante o período pandêmico (Oliveira *et al.*, 2022).

Por se tratar de uma população saudável, altamente controlada e com grande potencial de disponibilidade de amostras, pesquisas focadas nesse segmento populacional de surgiram, durante a pandemia, com a finalidade de avaliar a prevalência de anticorpos IgG contra o SC2. Com o intuito de dar continuidade a essas avaliações em um contexto pós-pandêmico, este estudo realiza análises mais aprofundadas para investigar a hipótese de que a variação nas taxas de anticorpos desse segmento de doadores de Fortaleza está relacionada à exposição ao antígeno. Para isso, foram conduzidos testes de quimioluminescência para medir os títulos de anticorpos IgG anti-SC2 e anticorpos totais de IgE e testes de turbidimetria para IgA, IgM e IgG totais. Também foram realizados ensaios de neutralização para estabelecer os valores de cortes dos títulos de anticorpos necessários para neutralizar as subvariantes mais recentes da Ômicron em 2024 – GK.1 e JN.1. Os resultados visam gerar *insights* relevantes sobre os fatores que influenciam a resposta imune-humoral e oferecer subsídios para o Sistema Público de Saúde no seguimento das campanhas de vacinação contra o SC2.

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1. Endemias, Surtos, Epidemias e Pandemias**

A investigação de doenças infecciosas, que se agrupam no tempo e no espaço, é um campo imprescindível da Epidemiologia. Termos, como endemias, surtos, epidemias e pandemias, classificam a ocorrência de uma condição de saúde, como uma doença infecciosa, considerando sua taxa de propagação possível ou não de ser prevista e se relacionando, também, com a dispersão e a transmissão em diferentes áreas geográficas (Grennan, 2019). Por definição, uma endemia se caracteriza pela presença constante e previsível de uma determinada condição de saúde em uma população específica, dentro de uma área geográfica delimitada, de forma sazonal ou não (Riley, 2019). Um surto corresponde a um aumento imprevisível no número de casos de uma doença em uma região, ou a aparição da doença em uma nova área geográfica. Uma epidemia é um surto que se propaga em múltiplas áreas geográficas, enquanto uma pandemia é uma epidemia que se propaga globalmente (Piret; Boivin, 2021). De toda forma, é importante salientar que a classificação oficial de uma determinada doença como endemia, surto, epidemia ou pandemia cabe unicamente à Organização Mundial da Saúde (OMS), após análise criteriosa realizada após a convocação de um comitê de especialistas.

Uma infecção emergente é aquela que surge de forma recente em uma população ou se propaga em uma nova área geográfica (Morens *et al.*, 2004). Assim, a transmissão zoonótica, ou seja, a transferência de patógenos animais para humanos, é uma das razões do porquê essas infecções emergentes vêm ganhando tanto espaço no surgimento de doenças infecciosas humanas. O aumento das interações humanas com animais, seja por meio da caça, da pecuária, do estabelecimento de criadouros ou da domesticação de animais exóticos, intensificou a probabilidade de transmissões cruzadas entre as espécies (Wolfe *et al.*, 2007). Fatores como o uso da terra e as mudanças climáticas sugerem deter exercer um papel significativo na amplificação da transmissão zoonótica de patógenos para humanos (El-Sayed; Kamel, 2020). A propagação de diversas doenças infecciosas com potenciais pandêmicos, como a influenza e o coronavírus, em diferentes áreas geográficas, vem causando consternação em todo o mundo. Essas doenças acabam se propagando de modo rápido e diversos fatores contribuem para essa disseminação, como a resistência dos patógenos aos fármacos usados para combatê-los, a tolerância do mosquito vetor aos inseticidas, a falta de saneamento básico, a ocupação de terras de

modo desordenado, as mudanças climáticas, e o aumento da mobilidade urbana entre cidades e países (Piret; Boivin, 2021). Recentemente, a pandemia de COVID-19 ocasionou impactos severos na saúde pública global, sobrecarregando os sistemas de saúde, afetando a economia mundial e aumentando a relevância de estudos na área de epidemiologia e genômica (Li; Song, 2023).

## **2.2 Agente Etiológico de Infecções Respiratórias**

### **2.2.1 Caracterização e Evolução do Coronavírus**

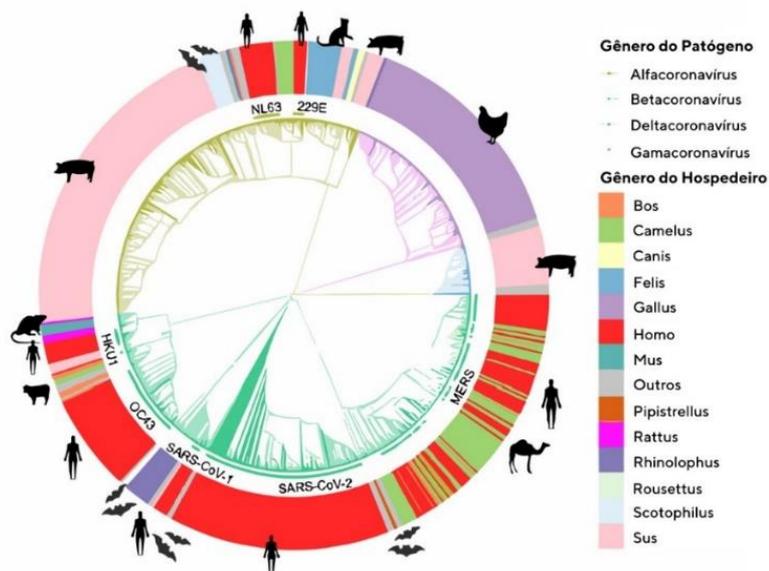
Os Coronavírus (CoV), pertencentes a subfamília *Coronavirinae*, são vírus de RNA de fita única positiva (+ssRNA), esféricos e envelopados, encontrados em mamíferos e em aves (Naik *et al.*, 2023). O envelope viral é derivado da célula hospedeira e contém uma glicoproteína, chamada *spike*, que, quando observada em um microscópio eletrônico, confere ao vírus a aparência de uma coroa. Os CoVs apresentam os maiores genomas de RNA dentre os vírus de RNA, com tamanho entre 27 e 32 kb de comprimento e até 125 nm de diâmetro (Rabaan *et al.*, 2020). Seus genomas codificam de quatro a cinco proteínas estruturais: *spike* (S), membrana (M), envelope (E), nucleocapsídeo (N) e hemaglutinina esterase (HE) (Rabaan. *et al.*, 2020).

A proteína S apresenta 150 kDa, é altamente N-glicosilada e forma trímeros que se projetam da superfície viral como espículas. Essa estrutura trimérica da proteína S é caracterizada como uma proteína de fusão de classe I, o que facilita sua ligação com o receptor. Geralmente, ela é clivada por uma protease semelhante a furina do hospedeiro, gerando dois domínios funcionais: S1 e S2 (Beniac *et al.*, 2006; Ortega *et al.*, 2020). O domínio S1 é crucial para a ligação da proteína ao receptor, enquanto o S2 fornece suporte estrutural para a fusão viral com a membrana celular (Ortega *et al.*, 2020). A proteína M, com 25 a 30 kDa, é a mais abundante no vírus. Ela apresenta três domínios transmembrana, um ectodomínio N-terminal e um endodomínio C-terminal (Mousavizadeh; Ghasemi, 2021). Sua estrutura dimérica contribui na manutenção da curvatura da membrana e na sua ligação com o nucleocapsídeo (Neuman *et al.*, 2011). A proteína E, com 8 a 12 kDa, é menos abundante que as outras proteínas estruturais do vírus. Ela se caracteriza como uma proteína transmembrana com um ectodomínio N-terminal e um endodomínio C-terminal (Javorsky; Humbert; Kvensakul, 2021). Ela atua como um canal iônico, relevante na patogênese viral do SARS-CoV e do SC2, além de ser uma proteína importante no processo de montagem e liberação do vírus (Widyasari;

Kim, 2023). A proteína N é um componente essencial do nucleocapsídeo viral, com domínios C-terminal e N-terminal capazes de se ligarem ao RNA do vírus. Por ser uma proteína altamente fosforilada, sua afinidade pelo RNA viral acaba sendo aumentada. Ela se liga a estrutura +ssRNA do vírus, formando esferas em uma estrutura de cordão (Rabaan *et al.*, 2020). O domínio C-terminal se liga a um sinal de envelopamento do RNA, o que auxilia na formação do nucleocapsídeo. Ela, então, participa do empacotamento do genoma viral, gerando as partículas virais a partir da interação com a proteína M e com o nsp3, componente crucial do complexo replicase.

Esse evento facilita a ligação com o complexo replicase-transcriptase do vírus, permitindo a replicação do genoma viral (Park, 2020; Zhao *et al.*, 2023). A hemaglutinina esterase é uma proteína presente apenas em alguns *betacoronavirus*. Sua função principal é se ligar ao ácido siálico presente nas glicoproteínas da superfície viral. A ligação do ácido siálico e a atividade esterase facilitam a entrada do vírus no hospedeiro, mediada pela proteína S (Ali *et al.*, 2023). Os CoVs são classificados em quatro subgrupos principais: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Gammacoronavirus* e *Deltacoronavirus* (Ali *et al.*, 2023). Presume-se que os dois primeiros tenham se originado em morcegos e roedores, enquanto os dois últimos são derivados de espécies aviárias (Figura 01).

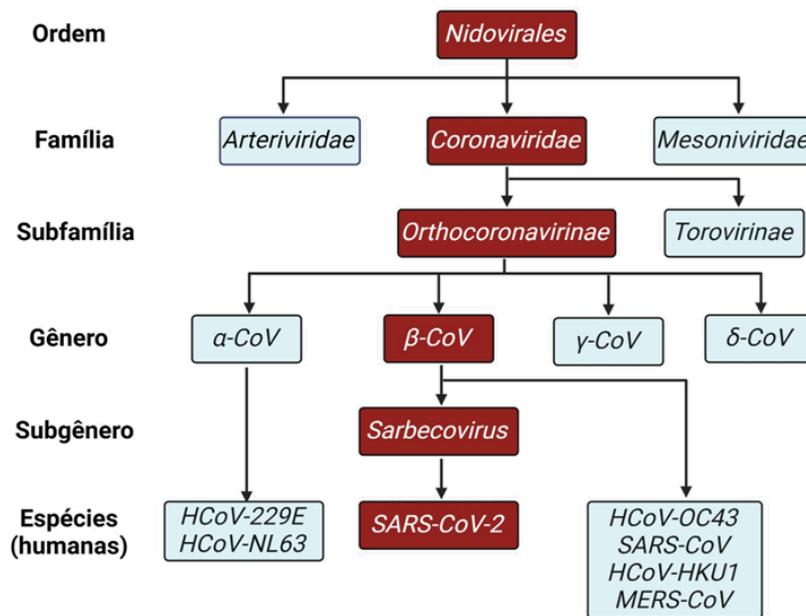
Figura 01 - Relação dos principais subgrupos de *Ortocoronavirinae* com os respectivos hospedeiros principais



Fonte: Adaptado de Balloux *et al.* (2022)

Os Coronavírus capazes de infectar humanos (hCoV) pertencem aos subgrupos dos *Alphacoronavirus* e dos *Betacoronavirus* (Zhu *et al.*, 2020). O primeiro registro de hCoV data de 1965, com a cepa hCoV-B814, isolada de um paciente com sintomas de resfriado comum. Desde então, mais de 30 cepas diferentes de hCoV foram identificadas, dentre elas a hCoV-229E, hCoV-OC43, hCoV-HKU1 e a hCoV-NL63 (Naik *et al.*, 2023) (Figura 02). Essas cepas, geralmente, são de baixa patogenicidade e podem causar infecções leves a moderadas no trato respiratório superior humano, o que contribui com 15 a 30% dos casos de resfriados comuns (Liu; Liang; Fung, 2021). Em contraste, as duas cepas *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (SARS-CoV e SC2) e a *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (MERS-CoV) são as principais causas de infecções graves no trato respiratório inferior e representaram as principais epidemias de coronavírus das últimas décadas (Zhou *et al.*, 2021).

Figura 02 - Classificação cladística dos principais Coronavírus humanos



Fonte: Adaptado de Naik *et al.* (2023)

O SARS-CoV, com origem de Hong Kong, foi o primeiro hCoV associado a surtos de síndrome respiratória aguda grave e se tornou responsável pela primeira epidemia causada por um vírus hCoV, com mais de 8.000 casos de infecções e uma taxa de mortalidade de mais de 9%, causando cerca de 900 óbitos em 32 países entre 2002 e 2003 (Cai *et al.*, 2020). O vírus infecta células epiteliais pulmonares e células do sistema imunológico, como as células dendríticas e os macrófagos. A produção de citocinas pró-

inflamatórias por essas células infectadas resultavam em uma resposta inflamatória sistêmica grave, com complicações possivelmente fatais (Speigel *et al.*, 2006; Rabaan *et al.*, 2020). A epidemia de SARS-CoV também teve um impacto significativo na economia global, com uma perda mundial estimada em mais de U\$S 40 bilhões, com destaque para o sudeste asiático e para o Canadá, que foram os principais atingidos. Por apresentar uma baixa taxa de transmissão, o surto do SARS-CoV acabou sendo eventualmente contido (Qiu *et al.*, 2018; Peters *et al.*, 2020). A segunda epidemia de hCoV aconteceu com a cepa MERS-CoV, originária da Arábia Saudita, cerca de uma década depois do início da epidemia de SARS-CoV, em 2012 (Magnavita *et al.*, 2021). A epidemia de MERS-CoV afetou diversos países do Oriente Médio, com registros de 2.519 casos confirmados e 866 mortes, resultando em uma taxa de mortalidade de cerca de 34,4%, segundo dados da OMS (OMS, 2020). Esses eventos destacaram os CoVs como uma das maiores ameaças emergentes do século XXI, representando uma grande preocupação mundial no âmbito da saúde pública devido ao seu potencial pandêmico e impacto nos sistemas de saúde (Cui; Li; Shi, 2019).

### **2.2.2 Origem e caracterização do SC2 como novo Coronavírus humano**

Originalmente, alguns CoVs eram classificados como causadores de infecções enzoóticas, limitadas somente aos seus hospedeiros animais naturais. No entanto, esses vírus sofreram mutações que os tornaram capazes de cruzar a barreira entre espécies e se estabelecer em humanos, causando infecções zoonóticas (Malik, 2020). Todos os hCoVs altamente patogênicos, anteriores ao SC2, tiveram origem zoonótica (Guan *et al.*, 2003; Song *et al.*, 2005). Muitos anos de pesquisa, desde a epidemia do SARS-CoV, em 2002, revelaram que diversas espécies de morcegos, advindos das cavernas da província de Yunnan, na China, são portadores do vírus ancestral do SARS, incluindo o SC2 (Li *et al.*, 2005; Zhou *et al.*, 2020). Portanto, os morcegos atuam como reservatórios primários de vários vírus SARS-like (Zhou *et al.*, 2020). Além disso, pangolins de diversas regiões do sudeste asiático também hospedam uma variedade de vírus muito próximos ao SC2, o que torna improvável um contágio direto do morcego para o humano (Wacharapluesadee *et al.*, 2021; Pagani *et al.*, 2023). Provavelmente, os eventos de repercussão do vírus ocorreram em locais com uma alta densidade populacional em contato com os animais vivos, que estavam sendo vendidos para alimentação nos mercados de Wuhan e que são suscetíveis à infecção por vírus SC2-like (Pagani *et al.*, 2023).

Por essa razão, no final de dezembro de 2019, um surto associado a um novo hCoV foi relatado na cidade de Wuhan, China. Inicialmente conhecido como nCoV-2019, o vírus causava uma pneumonia incomum (Basseti; Vena; Giacobbe, 2020). Com o tempo e a confirmação de novos casos, o vírus passou a ser chamado de SARS-CoV-2, causador da doença COVID-19, que rapidamente se espalhou pelo mundo, tornando-se a sétima doença causada por um Coronavírus capaz de infectar humanos (Zhou *et al.*, 2021). Análises das primeiras sequências do vírus em Wuhan identificaram duas linhagens independentes de SC2 circulando simultaneamente em diferentes mercados de animais selvagens da cidade. Essas linhagens podem ter sido transmitidas por animais ainda não identificados capturados da natureza ou animais de criação vendidos nos mercados da cidade (Pagani *et al.*, 2023).

Embora a taxa de mortalidade da COVID-19 (3,4%) seja bem menor que as observadas nas epidemias de SARS-CoV (9,6%) e MERS-CoV (34,4%) (OMS, 2020; Zheng *et al.*, 2020; Low *et al.*, 2022), sua alta capacidade de transmissão e de adaptação aos hospedeiros humanos a tornou responsável por uma pandemia sem precedentes. Com um número básico de reprodução estimado ( $R_0$ ) de 5,7, a COVID-19 superou diversos quadros de epidemias observados ao redor do mundo, tanto em número de pessoas infectadas, quanto em óbitos e em abrangência espacial. A rápida propagação do vírus por mais de 200 países levou a sua classificação como pandemia em março de 2020, tornando-se uma ameaça a saúde pública do mundo todo (Deng; Peng, 2020; Han *et al.*, 2020; OMS, 2020; Li; Song, 2023).

Pelo fato do SC2 ser um *Betacoronavirus* e membro das espécies de hCoVs relacionadas à Síndrome Respiratória Aguda Grave, ele compartilha uma similaridade genética de 79% com o SARS-CoV e 51,8% com o MERS-CoV (Low *et al.*, 2023). O genoma do SC2 é similar aos dos outros CoVs e contém entre 10 e 14 ORFs. A região 5' de dois terços do genoma, onde se encontra a ORF1a/b, codifica duas grandes poliproteínas, que formam o complexo replicase-transcriptase do vírus (Malik, 2020). As outras ORFs do SC2, presentes no terço restante do genoma, codificam as quatro proteínas estruturais principais do vírus (S, M, E e N); além de 16 proteínas não estruturais (nsp) e 8 proteínas acessórias, que não participam do processo de replicação viral (Algaissi *et al.*, 2020; Naqvi, 2020). Embora a pandemia de COVID-19 tenha sido oficialmente declarada encerrada pela OMS em 5 de maio de 2023, o vírus continua a

circular e a causar infecções e mortes em todo o mundo. De acordo com dados da OMS atualizados em setembro de 2024, um total de 776.471.644 casos foram registrados e 7.068.677 pessoas vieram à óbito no mundo todo (OMS, 2024).

### **2.2.3 Processo de propagação e entrada do SC2 nas células humanas**

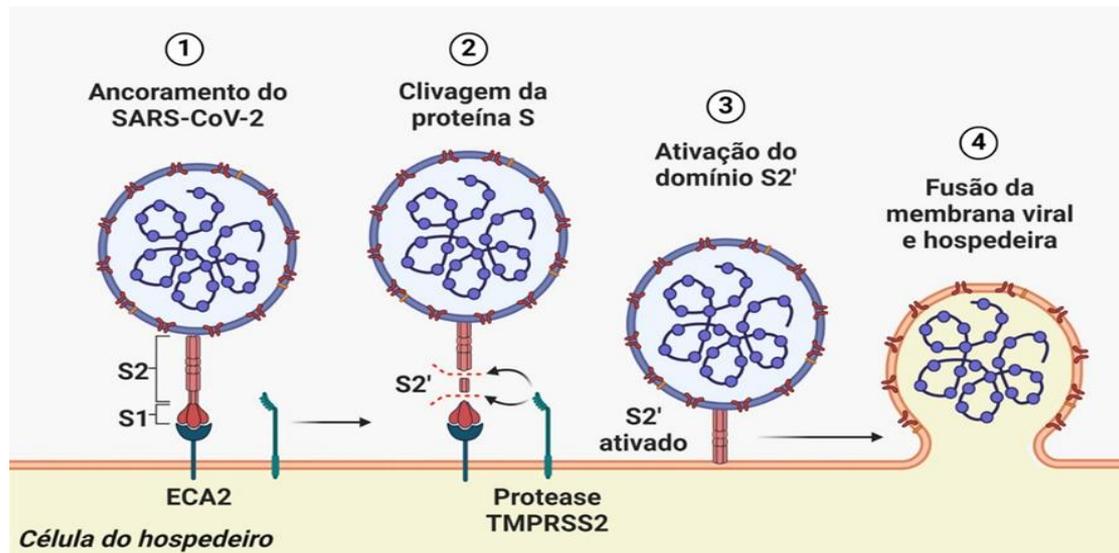
Embora a COVID-19 tenha origem zoonótica, a principal via de transmissão é o contato entre humanos (Karia *et al.*, 2020). Os vírus respiratórios propagam-se, principalmente, entre os indivíduos quando são expelidos do trato respiratório de pessoas infectadas e transferidos para o ambiente, infectando o trato respiratório de pessoas expostas e suscetíveis (Leung, 2021). Pacientes pré-sintomáticos e assintomáticos representam um desafio significativo no controle da COVID-19, pois podem emitir grandes quantidades de partículas de aerossóis infectadas, por meio de aerossóis. (Xu *et al.*, 2023). Ao contrário de outras pandemias no último século, a COVID-19 se destaca por ser a primeira na história na qual as logísticas da modernidade e a globalização assumem um papel central na disseminação em massa do vírus, gerando sérios problemas (Antras; Redding; Rossi-Hansberg, 2023). A proteína S do SC2, com seus 600 kDa, é uma das maiores proteínas de fusão de classe I já conhecidas. Essa glicoproteína trimérica, apresenta 66 grupamentos glicanos ligados a sua porção N-terminal. Cada protômero da proteína S compreende as subunidades S1, S2 e uma âncora única transmembranar (Yao *et al.*, 2020). A proteína S é crucial para a infecção das células hospedeiras. Ela está associada ao ancoramento do vírus na célula a partir da interação com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) na superfície celular, por domínios específicos da proteína S que são responsáveis pela ligação ao receptor, processamento da protease e fusão da membrana celular (Yousefimoqhadam *et al.*, 2023).

A ECA2 detém um papel imprescindível no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), pois regula a pressão sanguínea e mantém a homeostase dos eletrólitos no corpo. Esse receptor é altamente expresso nas células epiteliais dos alvéolos pulmonares e nas células epiteliais do intestino delgado, o que se relaciona com as vias de efeito do SC2. A ECA2 também é expressa de forma heterogênea em células dos rins, nas células epidérmicas da pele e na mucosa oral e nasal, além de células do coração, onde a infecção por SC2 pode levar à lesão miocárdica aguda, manifestada por altos níveis de troponina cardíaca I (Shi *et al.*, 2020; Tsai *et al.*, 2023). A estrutura da proteína ECA2 é altamente conservada entre diferentes espécies e exibe um alto grau de

similaridade com o Domínio de Ligação ao Receptor (DLR) do SARS-CoV. Contudo, existem diferenças estruturais do SC2 que explicam a maior afinidade do vírus ao ECA2 humano do que o SARS-CoV (Yousefimoqhadam *et al.*, 2023). O processo de infecção, no geral, ocorre da seguinte forma: o domínio extracelular, um dos três domínios da proteína S, tem duas subunidades funcionais, S1 e S2 (Chambers *et al.*, 2020). A subunidade aminoterminal S1 é responsável pelas ligações com o receptor da célula hospedeira, enquanto a subunidade carboxiterminal, S2, pela fusão na membrana (Jiang *et al.*, 2020). A subunidade S1 é dividida em domínio N-terminal (DNT) e domínio de ligação ao receptor (DLR). O vírus então se liga ao receptor, a partir do DLR (Astuti; Ysrafil, 2020). Após a clivagem da proteína S pelas proteases da célula do hospedeiro, na região de ligação entre a S1 e a S2, uma segunda clivagem ocorre no domínio S2, liberando o peptídeo de fusão S2', que é essencial para a fusão da membrana viral com a membrana celular, permitindo a entrada do vírus (Guo *et al.*, 2023). Diferentes proteases do hospedeiro podem estar envolvidas na clivagem da proteína S e a consequente entrada do vírus nas células, o que é um fator decisivo para o hospedeiro e para a especificidade do vírus (Tang *et al.*, 2021).

O TMPRSS2, uma serino-protease de ligação transmembranar do tipo II, constituído de 492 aminoácidos, é um componente crucial na preparação da proteína S do SC2 para a entrada nas células (Ye *et al.*, 2023). Hoffmann e colaboradores (2020) confirmaram a presença de um sítio de clivagem na região S1/S2 da proteína S. Essa região precisa ser pré-clivada por uma furina antes da ativação proteolítica do domínio de fusão S2' pela TMPRSS2. Essa etapa é fundamental para a fusão do vírus na membrana celular (Figura 03). Com a entrada do vírus na célula, um complexo programa de expressão gênica viral se inicia, cuidadosamente regulado para garantir a replicação do vírus. A tradução das ORFs 1a e 1b origina duas poliproteínas, pp1a e pp1ab, respectivamente (V'Kovski *et al.*, 2021). Essas poliproteínas são posteriormente processadas por proteases virais em dezesseis proteínas não estruturais, das quais, do pp1a, são liberadas as nsp1 até a nsp11, enquanto da pp1ab, liberam-se da nsp1 até a nsp10 e da nsp12 até a nsp16 (Finkel *et al.*, 2021; Slam *et al.*, 2023). O processo de entrada está ilustrado na Figura 03.

Figura 03 – As quatro principais etapas de entrada do SC2 nas células humanas por intermédio da proteína S



Fonte: Adaptado de Lamers; Haagmans (2022)

Após a tradução e o processamento das poliproteínas, as nsps do SC2 assumem funções cruciais na replicação viral. O nsp1 sequestra a maquinaria de tradução da célula hospedeira, permitindo que os vírus utilizem os recursos da célula para replicação (Schubert *et al.*, 2020). Já os nsp2 a nsp16 se organizam em um complexo transcriptase-replicase (Chaudhary *et al.*, 2021). A síntese do RNA ocorre a partir do nsp12, ou RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), proteína que tem sido prospectada como alvo para desenhos de fármacos na elaboração de novos antivirais contra o SC2 (Lou *et al.*, 2022). Enquanto isso, as ORFs presentes em um terço da porção 3' do genoma codificam as proteínas estruturais (S, M, N e E), que auxiliam na montagem de novos vírions. Após esse processo, os vírions do SC2 saem das células do hospedeiro, por meio do tráfego lisossomal (Ghosh *et al.*, 2020).

### 2.3 Impactos da pandemia de COVID-19 no Brasil

A velocidade de propagação da COVID-19 pelo mundo foi sem precedentes, quando comparada com outros surtos de hCoVs. Isso pode ser atribuído, principalmente, à globalização, aos impactos ambientais no mundo todo e à alta mobilidade urbana (Sigler *et al.*, 2021). Na América Latina, o primeiro caso de COVID-19 foi notificado no dia 26 de fevereiro de 2020, no Brasil. Um paciente, do sexo masculino, de 61 anos deu entrada no Hospital Israelita Albert Einstein, em São Paulo, conforme propedêutica médica, após retornar de viagem à Lombardia, Itália, com sintomas gripais (Brasil, 2020). O diagnóstico foi confirmado por teste diagnóstico de RT-qPCR, realizado pelo Instituto Adolfo Lutz, o genoma do vírus foi sequenciado e disponibilizado à comunidade

científica no dia 28 de fevereiro de 2020. Este caso marcou um ponto de inflexão na história da pandemia, representando o início de uma crise sanitária sem precedentes (USP, 2020). Três meses após confirmação, diversos estados já se encontravam em condições críticas. Os sistemas de saúde ficaram sobrecarregados, com as médias de ocupação de leitos ultrapassando o normal (Tang *et al.*, 2020). Desde então, de acordo com a última atualização em 10 de outubro de 2024, o país acumulou um total de 38.953.513 casos registrados e 713.626 óbitos, figurando como o terceiro país com mais óbitos por COVID-19 no mundo todo, atrás apenas dos Estados Unidos e da Índia (Ministério da Saúde, 2024).

Com o início do surto emergencial de COVID-19, os órgãos de saúde brasileiros implementaram diversas medidas de prevenção não farmacológicas, a fim de restringir a transmissão e a propagação viral de forma descontrolada. Diferentes medidas foram impostas, incluindo o distanciamento social; o uso obrigatório de máscaras de proteção; a instrução sobre a correta higienização das mãos e objetos pessoais, dentre outras medidas (Tang *et al.*, 2020; Ministério da Saúde, 2021). Além disso, muitos estados e cidades brasileiras adotaram medidas mais restritivas, como a quarentena, com apenas serviços essenciais em funcionamento e, em algumas delas, o sistema de lockdown foi imposto (Tang *et al.*, 2020). Em maio de 2020, o país atingiu seu primeiro pico no número de casos e mortes, o que o levou ao terceiro lugar no *ranking* de países com o maior número de infecções no mundo, atrás dos Estados Unidos e da Índia (Candido *et al.*, 2020). A partir de setembro de 2020, observou-se um declínio gradual no número de casos e de mortes, que se estendeu até novembro do mesmo ano (Silva; Pena, 2021).

Em novembro de 2020, o Brasil mergulhou em uma segunda onda de casos de COVID-19, o que coincidiu com o período de eleições municipais em todo o país e com o relaxamento das medidas de saúde pública (Sabino *et al.*, 2021). O ressurgimento da COVID-19 foi mais expressivo, primeiramente, em Manaus, Amazonas, com um colapso no fornecimento de oxigênio para pacientes graves (Buss *et al.*, 2021). O país vivenciou um aumento massivo no número de hospitalizações e de óbitos, chegando a 4.250 mortes por dia em março de 2021, potencializado pela falta de atendimento nos hospitais, com taxas de ocupações em Unidades de Terapia Intensivas (UTIs) acima de 90%, o que resultou no maior colapso do sistema de saúde da história do país (Buss *et al.*, 2021; Silva; Pena, 2021). Este período da segunda onda esteve mais intrinsecamente ligado ao

surgimento da variante de preocupação (VOC) Gama (P.1) no Brasil, com uma taxa de transmissão até 2,4 vezes maior do que todas as outras variantes não-gama (não-P.1). Esse fator provavelmente contribuiu para a alta transmissibilidade do vírus durante esse período (Tosta *et al.*, 2021; Faria *et al.*, 2021).

A terceira onda iniciou-se no final de dezembro de 2021, que se estendeu até o início de 2022. O número de casos apresentou um aumento significativo, chegando a até 582% em relação ao período anterior. No entanto, o número de óbitos permaneceu relativamente baixo, possivelmente devido ao efeito da vacinação em massa, iniciada no começo de 2021 (Rocha; Barbosa, 2023). Essa nova onda foi caracterizada pela rápida introdução e disseminação da variante Ômicron (BA.1) no país (Rocha; Barbosa, 2023). A contínua evolução dessa variante, com o surgimento de novas sublinhagens, levou ao aumento de casos nas ondas subsequentes.

A quarta onda, que ocorreu entre junho e julho de 2022, foi impulsionada pelas subvariantes da Ômicron (BA.4 e BA.5), enquanto a quinta onda, em setembro de 2022, teve como principal responsável a subvariante BA.5 da Ômicron (BQ.1 e BE.9) (Arantes *et al.*, 2024). Novos aumentos de casos foram avaliados. Com a constante evolução do SC2 ao longo dos anos, a vigilância genômica se tornou crucial para rastrear e monitorar a introdução e propagação de novas linhagens do SC2 no Brasil (Lamarca *et al.*, 2022). Nesse contexto, a Rede de vigilância genômica da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) (Rede Genomahcov) se destaca como um pilar na luta contra a COVID-19 no país. Presente em 10 Estados do Brasil e contando com o apoio de mais 18 instituições e laboratórios parceiros pelo país, a rede mantém a vigilância ativa do SC2 desde março de 2020. Com mais de 253.731 genomas depositados até maio de 2024 no *Global Initiative on Sharing All Influenza Data* (GISAID), a rede foi a responsável pelo maior número de genomas compartilhados na plataforma, contribuindo ativamente na avaliação do cenário epidemiológico do Brasil (Rede Genômica Fiocruz, 2024).

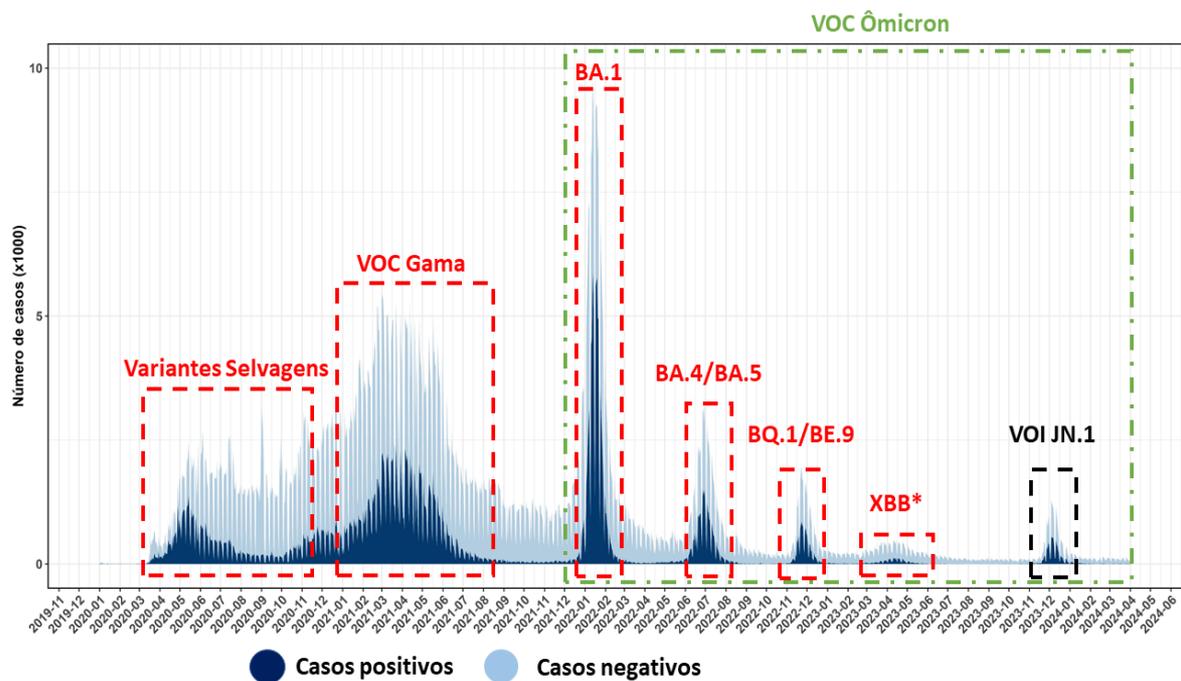
### **2.3.1 A pandemia da COVID-19 no Ceará**

No Ceará, os casos começaram a ser relatados em 15 de março de 2020, quando três pessoas foram diagnosticadas com a doença em Fortaleza. O Ceará foi o primeiro Estado do Brasil a declarar “estado de emergência”, por meio dos decretos nº 33.510, de 16 de março de 2020, e o de nº 33.519, de 20 de março de 2020, passando a adotar medidas de contingenciamento emergencial, que incluíram o fechamento de escolas,

igrejas, pontos comerciais e serviços não essenciais (Ceará, 2020a; Ceará, 2020b; Moreira *et al.*, 2022). Entretanto, o número de infecções avançou rapidamente, dobrando a cada dez dias. O Ceará se tornou um dos epicentros da doença no Brasil, ficando atrás apenas de São Paulo e do Rio de Janeiro (Brasil, 2020, Tang *et al.*, 2020). Em 2020, a incidência da COVID-19 no Ceará atingiu níveis preocupantes, com uma média de 14,1 casos por 100.000 habitantes, quase o dobro da média nacional de 7,5 casos por 100.000 habitantes (Brasil, 2020). A capital do estado, Fortaleza, concentrou o maior número de casos e de óbitos do Estado, evidenciando a necessidade de medidas mais rigorosas para conter a disseminação do vírus, como a implementação de medidas de confinamento, ou *lockdown* (Braga *et al.*, 2020).

Em janeiro de 2021, a segunda onda da COVID-19 atingiu o Ceará com a chegada da variante Gama (P.1), com um pico de casos e óbitos ainda maior entre março e maio de 2021 (Da Silva Oliveira *et al.*, 2022, IntegraSUS, 2024). A terceira onda iniciou-se em janeiro de 2022, com a chegada da variante Ômicron (BA.1) na capital, com um crescimento exponencial no número de infectados (IntegraSUS, 2024). Apesar da alta transmissibilidade da Ômicron, o avanço do calendário de vacinação em 2021 contribuiu para a redução significativa no número de mortes em comparação com o total de casos por dia (Elliot *et al.*, 2022). A quarta onda da COVID-19, que ocorreu entre junho e julho de 2022 com a expansão das subvariantes da Ômicron (BA.4 e BA.5). A evolução e a propagação das subvariantes da Ômicron continuou a gerar aumentos nos números de casos, como ocorreu em novembro e dezembro de 2022, quando as subvariantes BQ.1 e BE.9 chegaram no estado entre novembro de 2023 e janeiro de 2024, com a introdução da VOI JN.1 da Ômicron (Arantes *et al.*, 2024). Com isso, constata-se a importância do monitoramento constante da COVID-19 no Estado do Ceará como uma importante estratégia para traçar o perfil epidemiológico da doença na população. A Figura 04 destaca as principais ondas pandêmicas registradas em Fortaleza.

Figura 04 - Casos de COVID-19 registrados em Fortaleza entre março de 2020 e junho de 2024, com destaque para as principais variantes causadoras de ondas pandêmicas na região



Fonte: Adaptado de Integrasus, 2024. Disponível em: [IntegraSUS - Home \(saude.ce.gov.br\)](https://saude.ce.gov.br). Acesso em 05 jun. 2024

## 2.4 Aspectos Clínicos da COVID-19

Com a entrada nas células do trato respiratório superior, o SC2 inicia um processo de incubação, que pode durar entre 2 e 14 dias, com ciclos de replicação e propagação. Nesse estágio inicial da infecção, os indivíduos podem ser assintomáticos, entretanto já apresentam alta capacidade de transmissão. A carga viral atinge o pico com o início dos sintomas, tornando a transmissão ainda mais eficiente (He *et al.*, 2020; Parasher, 2020). O vírus migra do epitélio nasal para o trato respiratório inferior (Wan *et al.*, 2020). Os sintomas da COVID-19 variam em severidade e podem incluir febre, mal-estar, tosse, produção de muco nasal, dificuldade para respirar e perda de olfato e paladar. A resposta individual à infecção depende de vários fatores, como idade, comorbidades e estado do sistema imunológico (Ganyani *et al.*, 2020; Acosta *et al.*, 2022). A fase é marcada pelo início da resposta imune inata, mediada por citocinas e interferons antivirais, com subsequente início da resposta imune adaptativa. Se o hospedeiro apresentar uma resposta robusta nessa fase da infecção, como frequentemente observado em crianças e adultos jovens, a replicação viral pode ser controlada e a doença pode se limitar a sintomas leves, característicos desse estágio, e o paciente entra na fase de recuperação (Parasher, 2020; Yoshida *et al.*, 2022). Indivíduos que não controlam a replicação viral na fase inicial da infecção podem progredir para a fase clínica, ou estágio tardio da infecção, caracterizada

por uma ampla gama de sintomas da COVID-19, que variam em gravidade e duração (Wiersinga *et al.*, 2020). A progressão da doença para o trato respiratório inferior pode levar à síndrome respiratória aguda grave (SRAG), uma condição potencialmente fatal. A fase clínica da COVID-19 pode ser dividida em três fases principais: fase aguda/pneumonia, fase de viremia e fase letal/de recuperação (Zhu; Sharma; Chang, 2023).

A fase aguda é caracterizada por uma doença pulmonar, manifestada por sintomas como dispneia, tosse e produção de muco opaco. O aumento da permeabilidade pulmonar reduz a difusão de oxigênio, o que contribui para o desenvolvimento da fase letal da doença (Xu *et al.*, 2020). A fase virêmica, por sua vez, inicia-se com a entrada do SC2 no sangue periférico. A viremia e a consequente resposta do hospedeiro contribuem para uma inflamação sistêmica, a falência de diversos órgãos e a morte (Sefik *et al.*, 2022). A resposta inflamatória durante a COVID-19 grave é mediada por aumento de diversas citocinas pró-inflamatórias, como as interleucinas (ILs) do tipo IL-1 $\alpha$ ; IL-1 $\beta$ ; IL-6; IL-8; IL-12; IL-17; Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ); interferons (IFNs) do tipo  $\beta$  e  $\gamma$ , MCP-1 e MIP-1 $\alpha$ , tornando difícil especificar o mediador principal da resposta inflamatória (Fu; Cheng; Wu, 2020).

A fase letal é influenciada pela persistência viral; pela resposta inflamatória na forma de tempestade de citocinas, e pelos fatores de coagulação, que se encontram significativamente elevados em pacientes graves. Tais fatores podem contribuir para a manifestação de sintomas clássicos de trombose e de embolismo pulmonares. Nessa fase, a infiltração celular de neutrófilos, células T-CD4+ e TCD8+ citotóxicas migram para o tecido pulmonar, amplificando a inflamação e o dano tecidual (Cascella *et al.*, 2022). As células do hospedeiro realizam apoptoses persistentes, necroses ou piroptoses, o que aumenta os danos teciduais, levando à perda da função pulmonar e à fibrose, comprometendo a capacidade de respiração (Helms *et al.*, 2020). Por essa razão, a COVID-19 grave não está restrita ao sistema respiratório, podendo vir a afetar diversos órgãos, como o coração, a partir de manifestações de lesões do miocárdio, arritmias, síndrome coronária aguda e tromboembolismo venoso (Nishiga *et al.*, 2020; Acosta *et al.*, 2022).

A ação coordenada dos diversos mecanismos de defesa, quando o indivíduo inicia sua fase de recuperação, tende a diminuir. Isso é evidenciado pela redução na produção

de mediadores, como o IFN-  $\gamma$  e o TNF-  $\alpha$ , assim como na resposta celular, que envolve células NK e linfócitos B e T. Além disso, observa-se um aumento nos títulos de anticorpos IgG (Nasrollahi *et al.*, 2023) e a inibição da atividade de mediadores do sistema complemento, como os polipeptídeos pró-inflamatórios, incluindo a lectina ligada à manose (MBL, do inglês *Mannose-binding lectin*), o C3a e o C5a (Lo; Kemper; Woodruff, 2020). A ação conjunta desses mecanismos, que se conglobam durante a recuperação, resulta em uma resposta imunológica mais equilibrada.

#### **2.4.1 A complexidade da resposta imunológica durante a progressão da COVID-19**

A resposta imunológica exacerbada, caracterizada pela tempestade de citocinas, é um evento patológico comum em diversas doenças infecciosas. Todavia, no caso das várias possibilidades de manifestações clínicas da COVID-19, questões sobre o quanto a resposta pode ser benéfica ou patológica começaram a surgir (Zhu; Sharma; Chang, 2023). A resposta imune do hospedeiro, que se inicia a partir do reconhecimento dos padrões moleculares associados a patógenos (PAMP, do inglês *pathogen-associated molecular patterns*), apresenta-se como tentativa inicial de eliminação do patógeno pela ação da imunidade inata (Sariol; Perlman, 2020).

Diversos estudos sugerem que a resposta inicial do hospedeiro é atenuada em pacientes com COVID-19 grave, especialmente quando se considera os mediadores de interferon do tipo I, como o IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$  e o IFN- $\omega$  (Acosta *et al.*, 2022). Eles são indispensáveis no combate viral inicial e o prejuízo de suas ações está associado ao aumento da carga viral, que desencadeia uma resposta inflamatória exacerbada (Acosta *et al.*, 2022). A proteína N do SC2 assume um papel crucial na replicação viral e na progressão da COVID-19, atuando como antagonista dos interferons e subvertendo a resposta imune inata do hospedeiro (Zhu; Sharma; Chang, 2023). Ela vai agir suprimindo a fosforilação e impedindo a translocação nuclear de STAT1 e STAT2, proteínas intrinsecamente relacionadas à via de produção de interferon do tipo I (Mason, 2020). Assim, a produção de citocinas antivirais é silenciada, criando um ambiente propício para a replicação viral. Dada essas evidências, existem estudos que demonstram que diversas manifestações clínicas da COVID-19 podem ser um resultado de uma resposta imunológica lenta do hospedeiro para com a identificação de PAMPs específicas na fase inicial de infecção. Isso torna a resposta imune inata menos eficiente na eliminação do patógeno. Um fato que dá suporte a essa hipótese é o efeito benéfico que o tratamento

com interferon do tipo I tem mostrado ter em pacientes com COVID-19 (Walz *et al.*, 2021).

O atraso na resposta mediada por PAMPs desvia o curso da resposta imunológica para uma reação inflamatória não específica, dominada pela sinalização dos padrões moleculares associados ao dano (DAMP, do inglês *damage-associated molecular pattern*). Esses padrões são liberados das células hospedeiras infectadas pelos vírus, que estão disfuncionais ou danificadas (Day *et al.*, 2021). Apesar dos PAMPs e dos DAMPs poderem levar a respostas imunes inatas e adaptativas, os DAMPs podem causar disfunções adicionais, a partir da ativação de células apresentadoras de antígenos (APCs, do inglês *antigen-presenting cells*), como as células dendríticas, que liberam citocinas pró-inflamatórias, contribuindo para um ambiente inflamatório descontrolado (Day *et al.*, 2021). Os DAMPs iniciam a ativação da resposta imune inata, ao passo que auxiliam no processo de inflamação sistêmica, que pode gerar um sinal de *feedback* positivo para a perpetuação dessa resposta, culminando um ciclo vicioso que pode desencadear uma tempestade de citocinas, contribuindo para a autodestruição das células e dos tecidos em questão (Day *et al.*, 2021).

Estudos relatam, ainda, que a habilidade do hospedeiro de gerar uma resposta humoral inicial, ao invés de uma resposta tardia e robusta, é crucial na proteção do hospedeiro contra a forma grave da doença. Tanto o início tardio de uma resposta humoral, quanto a apresentação de uma elevada taxa de anticorpos, com potencial de ativação do sistema complemento e outras vias inflamatórias, são indicativos da forma grave da COVID-19 (Day *et al.*, 2021). Assim, na resposta imune adaptativa, as células T, com perfil Th1, assumem um papel central na eliminação do vírus (Tsang *et al.*, 2021). Elas auxiliam, principalmente, na produção de mais interferon do tipo 1 (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019). As células TCD4+ foliculares e a ativação das células Th2 auxiliam na ativação das células B dependentes de células T, levando à produção de anticorpos IgG anti-SC2 (Li *et al.*, 2020). As células TCD8+ citotóxicas reconhecem e eliminam as células infectadas pelo vírus, a partir da liberação de granzimas e perforinas, que se complementam de forma sinérgica para mediar a apoptose das células alvos doentes (Abbas; Lichtman; Pillai, 2019; Li *et al.*, 2020) (Tabela 01).

Existem também casos de persistência dos sintomas clínicos pós-infecção. Apesar da prevalência generalizada da COVID-19 longa, a compreensão do mecanismo da

fisiopatologia permanece limitada e com diversas hipóteses. A longa exposição do SC2 em tecidos específicos, como o sistema nervoso central, com a desregulação do sistema imunológico, pode levar à ativação continuada da resposta imune, podendo gerar autoanticorpos e inflamação crônica. A reativação de patógenos secundários, criam um ambiente propício para a proliferação de patógenos oportunistas, além de que a alteração da composição da microbiota afeta o eixo intestino-cérebro, contribuindo para fadiga, problemas cognitivos, dentre outros (Pretorius *et al.*, 2022; Zubchenko *et al.*, 2022; Altmann *et al.*, 2023). Dois terços da população com COVID-19 longa estavam em algum grupo de risco ou apresentaram alguma condição pré-existente, como ter obesidade, ter diabetes do tipo 2, apresentar reativação viral, apresentar a ação de autoanticorpos, dentre outros (Su *et al.*, 2022; Altmann *et al.*, 2023; Jacobs *et al.*, 2023).

Tabela 01 – Resumo dos principais marcadores imunológicos durante a progressão da infecção por SC2

Parâmetros	Correlação esperada	Efeitos observados
<b>IL-1<math>\beta</math>, IL-6 e IL-10</b>	↑	Indução contínua de proteínas de fase aguda; ativação desregulada de inflamossomas; hiperinflamação sistêmica; trombocitose; leva à falência respiratória;
<b>IL-1RA, IL-2R, IL-7, IL-8, IL-9, TNF-<math>\alpha</math>, MCIP1, G-CSF, IFN-<math>\gamma</math>, IP-10</b>	↑	Induzem a proliferação desregulada de células NK e de mediadores inflamatórios; aumentam a atração pelas células T; induz a produção de muco nos brônquios; leva à falência respiratória
<b>Linfócitos TCD4+ e TCD8+</b>	↑	O estado de linfopenia é característico de COVID-19 grave
<b>CD69, CD38, CD44</b>	↑	Alta expressão ativam linfócitos T e desencadeiam atividade citotóxica de células NK. Baixa expressão associada a resposta celular deficiente
<b>PD-1</b>	↑	Induzindo a inibição do receptor de células T que impede as suas ações citotóxicas
<b>Linfócitos B</b>	↑	Níveis baixos podem indicar progressão de manifestações graves
<b>IgG Específico para SC-2</b>	↑	Associado a resposta de memória contra o vírus
<b>IgM Específico para SC-2</b>	↑	Marcador de exposição/infecção recente pelo vírus
<b>IgA Específico para SC-2</b>	↑	Atua neutralizando o vírus do SC2 principalmente nas regiões de mucosa
<b>IgE Específico para SC-2</b>	↓	Altos níveis de IgE na progressão da COVID-19 podem exacerbar seus sintomas e levar a quadros graves.
<b>Células NK</b>	↑	Essenciais para a resposta imune inata. Baixos níveis no início da infecção associado à progressão da doença e prognóstico ruim

Fonte: Adaptado de SinoBiological, disponível em: Interleukin Function / Function of Interleukin | Sino Biological – Acesso em: 29/05/2024; adaptado de CDC, disponível em: *Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing* | CDC – Acesso em: 29/05/2024; Tanaka; Narazaki; Kishimoto, 2014; Yang, *et al.*, 2020; Farmani et al., 2021; Deng; Terunuma; Nieda, 2022; Li *et al.*, 2022; Declercq; De Leeuw; Lambrecht, 2022; Mansourabadi *et al.*, 2023

## 2.5 A evolução do SC2 e o surgimento das Variantes de Preocupação

Assim como todos os vírus de RNA, o SC2 tem maior probabilidade de acumular mutações durante o ciclo de replicação do que os vírus de DNA (Cosar *et al.*, 2022). Entretanto, os CoVs, no geral, apresentam uma exonuclease de revisão 3'-5', que confere maior fidelidade e menor taxa de erro durante a replicação mediada pela RNA polimerase dependente de RNA (Chinthapatla *et al.*, 2023). Considerando a evolução do SC2, diversas mutações evolutivas se acumularam, principalmente na região da proteína S, uma adaptabilidade ao hospedeiro humano e taxas de reinfeção maiores que o antecipado (Pagini *et al.*, 2023).

A rápida emergência de novas variantes do SC2 com um efetivo acúmulo de mutações que conferiram vantagens seletivas requereu esforços sem precedentes da comunidade científica global para o desenvolvimento de soluções de resposta rápida para seu monitoramento molecular. Assim, iniciativas de vigilância epidemiológica viral baseadas em assinaturas genômicas foram implementadas globalmente, visando o compartilhamento quase em tempo real de informações (Munnik *et al.*, 2021). A fim de tornar a nomenclatura de variantes mais compreensíveis, a OMS recomendou o uso de letras gregas para nomear as variantes de maior impacto do SC2 (OMS, 2021) e as categorizou em ordem crescente em Variantes Sob Monitoramento (VUM, do inglês *Variants Under Monitoring*), Variantes de Interesse (VOI, do inglês *Variants of Interest*) e Variantes de Preocupação (VOC, do inglês *Variants of Concern*) (OMS, 2023a). Esta classificação de variantes de SC2 é baseada na avaliação de perfis genéticos emergentes que afetam diretamente o comportamento do vírus e a epidemiologia da COVID-19 e que está relacionada aos níveis atuais de circulação, potencial de espalhamento, gravidade da doença, escape imunológico ou terapêutico (Janik *et al.*, 2021; CDC, 2023). Dependendo do nível de risco para a saúde pública global, uma variante pode receber designações de VUM a VOC, sendo para esta última requerido demonstrar associação com pelo menos uma alteração significativa a nível de saúde pública global, exemplificadas por: a) Aumento na transmissibilidade ou mudança negativa drástica na epidemiologia da COVID-19; b) Aumento na virulência ou mudança na apresentação clínica da doença; ou c) Redução da efetividade das medidas sociais e de saúde pública, além de redução da eficiência dos diagnósticos disponíveis, vacinas e terapias (Choi; Smith, 2021; OMS, 2023a). As principais variantes estão sumarizadas na Tabela 02

Tabela 02 – Principais Variantes de preocupações (VOCs) e de Interesse (VOI) reconhecidas pela OMS

Designação OMS	Sublinhagem Pango	Primeiros casos	Data de designação
<b>Alfa</b>	B.1.1.7	Reino Unido, Set-2020	<b>VOC: 18-Dez-2020</b> <b>VOC anteriormente circulante: 09-Mar-2022</b>
<b>Beta</b>	B.1.351	África do Sul, Mai-2020	<b>VOC: 18-Dez-2020</b> <b>VOC anteriormente circulante: 09-Mar-2022</b>
<b>Gama</b>	P.1	Brasil, Nov-2020	<b>VOC: 11-Jan-2020</b> <b>VOC anteriormente circulante: 09-Mar-2022</b>
<b>Delta</b>	A.Y	Índia, Out-2020	<b>VUM: 24-Nov-2021</b> <b>VOC: 26-Nov-2021</b> <b>VOC anteriormente circulante: 14-Mar-2023</b>
<b>Ômicron</b>	BA.1	Múltiplos países Africanos Nov-2021	
	BA.2	Reino Unido, Dez-2021	
	BA.4/BA.5	Estados Unidos, Abr-2022	
	BQ.1	Estados Unidos, Ago-2022	
	BE.9	Brasil, Ago-2022	
	Recombinantes (XBB*)	Índia, Europa Set-2022	
	JN.1	Estados Unidos Ago-2023	<b>VOI: 18-Dez-2023</b>

Fonte: Adaptado de Organização Mundial da Saúde, disponível em: <https://www.who.int/activities/tracking-SC2-variants> - Acesso em: 03 abr. 2024

### 2.5.1 Primeiras VOCs

Em dezembro de 2020, uma nova variante, definida como B.1.1.7 e denominada Alfa pela OMS, foi, então, identificada no Reino Unido. Um estudo estimou um aumento entre 43% e 90% do Ro da VOC Alfa, comparado às variantes pré-existentes, enquanto outros estudos ainda apontaram um aumento no risco de hospitalização e/ou de morte em 65%, quando comparado às outras variantes (Davies *et al.*, 2021; Horbt *et al.*, 2021). Ainda em dezembro de 2020, pesquisadores reportaram o surgimento da linhagem B.351 ou variante Beta, advinda da região da África do Sul. Rapidamente, a variante passou a ser identificada em diversos outros países (Tegally *et al.*, 2021b). Um estudo estimou um aumento de 50% no Ro da VOC beta, quando comparado às variantes pré-existentes. No entanto, o risco de o paciente chegar a óbito não pareceu aumentar de forma significativa,

em comparação as variantes pré-existentes, apresentando um incremento de cerca de 10% (Choi; Smith, 2021; Funk *et al.*, 2021).

Em janeiro de 2021, a linhagem P.1 ou variante gama, foi detectada pela primeira vez em um grupo de 4 viajantes que retornavam do Estado do Amazonas, no Brasil, para o Japão (Fujino *et al.*, 2021). A variante apresenta 10 mutações na proteína S, sendo 3 delas (L18F, K417N e a E484K) associadas, apresentar uma melhor afinidade de ligação da proteína S a ECA2, aumentando a transmissibilidade da doença (Sabino *et al.*, 2021). A VOC logo se disseminou para todo o Brasil, iniciando a 2ª onda pandêmica, com significativo aumento no número de casos graves e de óbitos (Banho *et al.*, 2022).

Em março de 2021, o governo da Índia reportou uma variante do SC2 com as mutações adicionais na proteína S (Singh *et al.*, 2022). Dentro de poucos meses, a variante denominada B.1.617 foi detectada em outros países e foi nomeada como Delta, segundo a OMS (Ukhsa, 2021). A mutação L452R, pode estabilizar a interação entre a proteína S e a ECA2, aumentando a infectividade (Mlcochova *et al.*, 2021). As mutações da variante Delta explicam sua alta transmissibilidade, 64% superior à variante Alfa, com um Ro de 1,64. Indivíduos infectados pela Delta demonstraram maiores necessidades de suplementação de oxigênio, maiores taxas de internações e de óbitos em comparação com outras variantes pré-existentes (Ong *et al.*, 2020; Choi; Smith, 2021).

### **2.5.2 VOC Ômicron**

Em novembro de 2021, uma nova VOC, chamada B.1.1.529 ou Ômicron foi detectada na África do Sul (Viana *et al.*, 2022). Seu alto número de mutações (60), principalmente na proteína S, levantou muitas preocupações a respeito da evolução do vírus (Callaway; Ledford, 2021; An *et al.*, 2024). Essas mutações tornaram o vírus ainda mais transmissível do que as outras VOCs. Estudos *in vivo* demonstraram que, apesar de mais infecciosa, a Ômicron causa uma versão mais atenuada da COVID-19, pois tem menor capacidade de se propagar pelo trato respiratório inferior (Chi-Wai, 2021). É importante ressaltar que, ao contrário das outras VOCs, as mutações da Ômicron reduziram em até 22 vezes a capacidade de neutralização por anticorpos IgG, o que tornou a população humana ainda mais suscetível ao vírus (Cele *et al.*, 2022). A rápida propagação da variante Ômicron pelo mundo todo substituiu as infecções pela VOC Delta em poucas semanas (Iketani *et al.*, 2022). A evolução viral persistiu, o que favoreceu a

emergência de novas subvariantes da Ômicron, como a BA.1; BA.2; BA.3; BA.4 e a BA.5 (Mohapatra et al., 2022).

A BA.1 foi a mais prevalente globalmente, responsável pelas primeiras ondas da variante pelo mundo, demonstrando significativo escape imunológico (Evans *et al.*, 2022). A subvariante BA.2 se disseminou rapidamente pelo mundo a partir do início de 2022, com uma taxa de ataque secundária superior à BA.1. Apesar de ser uma sublinhagem da Ômicron, ela apresenta uma sequência genômica bem diferente da BA.1 (Yamasoba *et al.*, 2022). A linhagem BA.3, por sua vez, foi detectada em baixos níveis e foi a única subvariante da Ômicron a ser considerada VOI (Fan *et al.*, 2022; Zhou; Zhi; Teng, 2023). No início de 2022, a BA.4 e a BA.5 foram detectadas como novas subvariantes da Ômicron. Ambas se assemelham mais à BA.2, apesar de carregarem mutações próprias (Andre *et al.*, 2023). Essas subvariantes se espalharam rapidamente pelo mundo, demonstrando maior capacidade em se propagar, quando comparadas com VOCs anteriores. Ambas podem evadir o efeito vacinal, com a BA.4 apresentando menor efetividade dos anticorpos vacinais do que a BA.5 (Cao *et al.*, 2022; Tuekprakhon *et al.*, 2022).

Em outubro de 2022, foi identificada uma nova subvariante da BA.5, a BQ.1, portando mutações adicionais na proteína S, como a N460K e a K444T (Mahmoud *et al.*, 2023). Ambas as sublinhagens apresentaram alto nível de transmissibilidade e de escape imunológico, demonstrando resistência aos anticorpos vacinais neutralizantes (Qu *et al.*, 2022). Em outubro de 2022, a Rede de Vigilância Genômica da Fiocruz sequenciou o genoma e confirmou o surgimento de uma nova sublinhagem descendente da BA.5, a BE.9 (BA.5.3.1.9). O primeiro caso foi identificado no Estado do Amazonas e apresentava uma deleção de 244 pares de bases na região ORF7a (Rede Genômica Fiocruz, 2023), o que pode ter contribuído para maior transmissibilidade e escape imunológico (Goswami *et al.*, 2023).

No final de 2022, a sublinhagem XBB foi identificada pela primeira vez. Ela é o resultado da recombinação entre duas descendentes da BA.2, a BJ.1 e a BM.1.1.1 (Chakraborty *et al.*, 2023). Essas variantes se espalharam rapidamente pela Ásia, primeiramente, e logo chegaram a várias partes do mundo. Com a evolução do vírus, em 2023, foi identificada outra subvariante da XBB, a XBB.1.5, ou *Kraken*, como ficou conhecida. Ela possui mutações adicionais, que lhe conferem maior capacidade de

transmissão e escape imunológico. Desse modo, a constante evolução da VOC Ômicron fez com que o cenário mundial ficasse marcado pela prevalência de importantes sublinhagens da VOC Ômicron (Graham, 2023; Parums, 2023), como ficou evidente também com a recente ascensão da VOI JN.1, no final de 2023 (Arantes *et al.*, 2024). A JN.1 se trata de uma sublinhagem da variante BA.2.86, que apresenta uma única mutação adicional na proteína S (S:L455S). Ela foi elevada ao estado de VOI pela OMS, em dezembro de 2023 e se tornou a subvariante da Ômicron mais prevalente no Ceará a partir de novembro de 2023.

## **2.6 Vacinação contra a COVID-19**

As vacinas são ferramentas essenciais para a proteção individual e coletiva contra as doenças preveníveis por vacinas, o que inclui a COVID-19 (OMS, 2020). Para as pessoas com comorbidades, as vacinas reduzem o risco de maiores danos à saúde e mortes (Alukal; Naqvi; Thuluvath, 2022). Elas protegem tanto diretamente como indiretamente, quando se considera as pessoas com algum imunocomprometimento ou aquelas que não podem ser imunizadas por motivos de saúde (Dubé; MacDonald, 2022). Desde o início da pandemia de COVID-19, diversas vacinas foram testadas e aprovadas para uso emergencial, porém, continuamente, novas cepas do SC2 têm emergido, de forma a limitar a efetividade de vacinas e permitir que surtos continuem ocorrendo (Abulsoud *et al.*, 2023; Rosano *et al.*, 2021).

As vacinas com SC2 inativado utilizam células Vero para proliferarem o vírus ativo, seguido da sua inativação com substâncias químicas, eliminando a capacidade infecciosa e preservando sua imunogenicidade (Verdecia *et al.*, 2021). Esse tipo de vacina ativa diversas reações imunológicas em resposta à existência de um vírus inteiro com seus diferentes antígenos de superfície. Entretanto, possui baixa estabilidade e um curto período de ação (Wang *et al.*, 2020). Alguns exemplos das vacinas de vírus inativados presentes contra o SC2 são a da Sinopharm, Sinovac e a Covaxin. Alguns adjuvantes também foram incluídos a fim de provocar uma maior duração da resposta imunológica (Ghasemiyeh *et al.*, 2021).

As vacinas de proteína viral são produzidas por meio da seleção, isolamento e purificação de proteínas virais capazes de desencadear uma resposta imunológica sem induzir a doença (Syomin; Ilyin, 2019). Adjuvantes são frequentemente adicionados para estimular uma resposta imunológica duradoura e ativar uma produção robusta de

anticorpos neutralizantes. Vacinas de subunidades virais são mais seguras do que as vacinas de vírus completo (Zhang *et al.*, 2023). No caso do SC2, ambas Covovax e a Nuvaxovid contêm nanopartículas da proteína S recombinante do SC2, que provocam resposta imune celular e humoral (Lin *et al.*, 2021). A proteína produzida é isolada e montada em nanopartículas de lipídeo, enquanto uma matriz adjuvante é adicionada para estimular a resposta imunológica (Batty *et al.*, 2021).

As vacinas de vetor viral são a primeira classe de vacinas de próxima geração. Elas consistem em um vetor viral geneticamente modificado e construído para transferir genes dos antígenos do SC2 para células hospedeiras. Após a infecção celular, elas são induzidas a produzir uma grande quantidade de antígenos do SC2, desencadeando uma resposta imunológica celular e humoral (Wang *et al.*, 2023; Lin *et al.*, 2021). As vacinas de vetores virais são desenvolvidas a partir da deleção de genes patogênicos e, por vezes, genes de replicação do vírus utilizado como vetor. Isso garante a segurança da vacina, pois os genes transferidos dos vetores virais não se integram ao genoma da célula hospedeira. Por essa razão, eles não trazem prejuízos e acabam por provocar uma resposta imune mais robusta do que as vacinas de proteínas virais (Abulsoud *et al.*, 2023; Callaway 2020). A vacina contra COVID-19 da Janssen (Ad26.COV2.S), por exemplo, utiliza um vetor de adenovírus humano recombinante e não replicante que inclui a sequência do gene S do SC2 e pode induzir altos níveis de anticorpos neutralizantes (Francis *et al.*, 2022). Já a vacina da Astrazeneca (AZD1222) utiliza um adenovírus de DNA modificado e não replicante de chimpanzé, formalmente conhecido como ChAdOx1 nCoV-19 (Joudeh *et al.*, 2023). Ele migra para o núcleo da célula do hospedeiro vacinado, onde produz partículas da proteína S do SC2 (Thompson *et al.*, 2021). No Brasil, a vacina foi desenvolvida pela Biomanguinhos/Fiocruz a partir de acordo com o Ministério de Saúde (Fiocruz, 2023).

As vacinas de RNAm, por sua vez, visam instruir as células do corpo a produzir a proteína S ou subunidades, encapsulá-las em nanopartículas de lipídeos e promover o transporte dessas partículas para as células hospedeiras (Chauhan *et al.*, 2021). Dentro das células, as nanopartículas se desintegram, liberando o mRNA, que se torna disponível para a maquinaria de tradução celular produzir a proteína viral, a qual provoca ambos os estímulos para a imunidade humoral e celular, protegendo o indivíduo contra o vírus (Seneff; Nigh, 2021). As vacinas de mRNA têm sido consideradas uma alternativa

promissora às vacinas tradicionais devido a sua alta eficiência, segurança, baixo custo e rápida produção (Gote *et al.*, 2023). As vacinas da Comirnaty (Pfizer/BioNTech) e da Moderna (Spikevax) contêm nanopartículas de lipídeos, que encapsulam mRNA. Este, é sintetizado a partir da transcrição de sua sequência correspondente advindo de um DNA molde, que codifica subunidades da proteína S do SC2 (Hermosilla *et al.*, 2023).

Dada a habilidade de se utilizar a tecnologia de mRNA para responder rapidamente às cepas de variantes, as vacinas bivalentes foram criadas no início de 2022, pela Pfizer/BioNTech, a fim de conter a ameaça da emergência da VOC Ômicron e suas subvariantes, que vinham apresentando forte escape imunológico (Chalkias *et al.*, 2022). A vacina foi desenvolvida a partir da combinação de mRNA da cepa ancestral do SC2 e do mRNA da BA.1 em quantidades iguais (Chalkias *et al.*, 2022). Em novembro de 2022, estudos demonstraram que a aplicação de uma dose extra da vacina bivalente apresentou eficiência de até 56% contra os casos emergentes das subvariantes BA.4 e BA.5, o que revela sua relevância para conter casos mais graves da doença (Offit, 2023).

Em relação as vacinas de DNA, a tecnologia utiliza plasmídeos de bactérias que contêm sequências gênicas para codificar subunidades da proteína S (Chavda *et al.*, 2021). Esses plasmídeos podem entrar pela membrana do núcleo dos linfócitos B e codificar uma proteína viral de interesse, que será detectada pelo linfócito (Narayanan *et al.*, 2022). As vacinas de DNA se destacam pela alta estabilidade, fácil transporte e pela possibilidade de ser estocada por um longo período (Yin *et al.*, 2021). Por outro lado, a potencial incorporação de genes transfectados no genoma humano é uma das desvantagens significativas, que podem levar a mutações (Abulsoud *et al.*, 2023). Em agosto de 2021, a ZyCoV-D se tornou a primeira vacina de DNA a receber autorização emergencial de aplicação contra a COVID-19 (Chavda; Pandya; Apostolopoulos, 2021).

Até o final de 2022, cerca de 69% da população mundial havia recebido pelo menos uma das doses da vacina contra a COVID-19 (Privor-Dumm *et al.*, 2023). Além das disparidades de distribuição das vacinas pelo mundo, onde certos países têm acesso mais rápido e em maior quantidade do que outros, a não aderência às campanhas de vacinação é uma realidade para algumas pessoas que temem os efeitos adversos da vacina (Privor-Dumm *et al.*, 2023; Lamprinou *et al.*, 2023). As principais vacinas para o SC2 estão sumarizadas na Tabela 03

Tabela 03 – Principais vacinas existentes contra o SC2 e tipos de tecnologias utilizadas

<b>Fabricantes de Vacina</b>	<b>Tecnologia</b>	<b>Características de imunização</b>	<b>Status</b>
<b>Sinopharm, Sinovac, Covaxin</b>	Vírus Inativado	Baixa estabilidade e curto período de duração	Aprovadas para uso
<b>Covi-Vac</b>	Vírus Atenuado	Ativa TLRs; resposta imune robusta e duradoura	Ensaios Clínicos de Fase II
<b>Covovax, Nuvaxovid</b>	Subunidades virais	Imunidade celular induzida por baculovírus modificado com o gene da proteína S	Aprovadas para uso
<b>Comirnaty (Pfizer/BioNTech); Moderna (Spikevax)</b>	mRNA	Imunidade celular e humoral induzida pela tradução de subunidades de S	Aprovadas para uso
<b>ZyCoV-D</b>	DNA	Imunidade induzida por plasmídeos engenheirados com sequências da proteína S	Aprovada para uso
<b>Ad26.COV2.S (Janssen); AZD1222 (Astrazeneca)</b>	Vetor viral	Induz altos níveis de anticorpos neutralizantes pelo uso de adenovírus humano que expressa o gene S	Aprovadas para uso

Fonte: Ghasemiyeh *et al.*, 2021; Abulsoud *et al.*, 2023; Zhang *et al.*, 2023; Francis *et al.*, 2022; Hermosilla *et al.*, 2023.

### **2.6.1 Vacinação no Brasil**

Em janeiro de 2021, o Brasil deu início à campanha de vacinação contra a COVID-19. Até o fim de 2023, cerca de 80,2% dos brasileiros com mais de 6 meses de idade completaram o esquema de imunização básico contra a doença (Ministério da Saúde, 2023). O esquema vacinal deu início com a priorização de grupos de maior risco, como os profissionais da saúde, as pessoas com comorbidades e idosos acima de 65 anos, seguindo, após esse ponto, uma ordem decrescente de faixas etárias de aplicação, abrangendo gradualmente toda a população (Ministério da Saúde, 2023). Com o avanço da campanha, adolescentes e crianças também foram incluídas, até que em dezembro de 2022, a vacinação de crianças entre 6 meses e 5 anos passou a ser aprovada, expandindo ainda mais a cobertura da campanha (Brasil, 2022). Em janeiro de 2024, a vacina contra a COVID-19 foi incorporada ao calendário nacional de vacinação, contemplando crianças

a partir de 6 meses de idade, tornando-a uma medida de rotina para a proteção contra a doença (Ministério da Saúde, 2024a).

Embora o Brasil tenha se destacado como protagonista em campanhas de vacinação em outros momentos de sua história, o país demonstrou lentidão no processo de vacinação contra a COVID-19 em 2021. Nos primeiros seis meses de campanha, apenas 25% da população havia completado o esquema vacinal (Ministério da Saúde, 2024b; Maciel *et al.*, 2022). A baixa cobertura vacinal, aliada ao surgimento da VOC Gama no país, contribuiu para que o Brasil se tornasse um dos epicentros da pandemia até metade de 2021 (Andrade *et al.*, 2021). Hallal (2021) argumenta que, com uma gestão otimizada da pandemia e priorização da vacinação, o país poderia ter evitado 75% das mortes por COVID-19.

## **2.7 Farmacoterapia de tratamento contra a COVID-19**

As perspectivas de terapias para COVID-19 avançaram em um ritmo surpreendente. Diversos ensaios clínicos randomizados, com rigor científico, avaliaram a segurança e a eficácia desses agentes. Novos medicamentos e fármacos de reposição foram testados, com alguns alcançando autorização para uso emergencial e, em alguns casos, aprovação final por agências regulatórias, como o *Federal Drug Administration* (FDA) (Murakami *et al.*, 2023).

No início da pandemia de COVID-19, várias drogas de reposição foram testadas em ensaios clínicos (Axfors *et al.*, 2021; Arabi *et al.*, 2021). Foi nesse contexto que os antimaláricos, como a Cloroquina e a Hidroxicloroquina, e o antibiótico azitromicina passaram a ser utilizados. As evidências mostraram, posteriormente, que nenhum dos medicamentos se associava à redução das taxas de mortalidade ou ao aumento das taxas de recuperação dos pacientes. Em junho de 2020, o FDA contraindicou o uso de cloroquina e hidroxicloroquina para o tratamento da COVID-19 (Arman *et al.*, 2023; Iacopetta *et al.*, 2022). Além disso, não há recomendação para o uso de azitromicina na profilaxia ou no tratamento da COVID-19 (Furtado *et al.*, 2020; Butler *et al.*, 2021).

Os principais corticoides utilizados para o tratamento da COVID-19 são a metilprednisolona e a dexametasona (Ranjbar *et al.*, 2021). Apesar da controvérsia em torno de seu uso, principalmente após advertência da OMS sobre seus riscos, os corticoides podem ser uma opção em casos específicos, como em pacientes com doença

pulmonar obstrutiva crônica. (Iacopetta *et al.*, 2022). Os corticoides eventualmente suprimem mediadores antivirais importantes, como os IFNs I e III, o que pode favorecer a permanência do vírus no organismo e resultar em infecções secundárias graves (Panahi *et al.*, 2023; Kumar; Hinks; Singanayagam, 2020).

Múltiplas terapias antivirais foram propostas e outras seguem no fluxo de testagem clínica. Um dos principais exemplos é o remdesivir. Ele é um agente antiviral de amplo espectro, inicialmente desenvolvido para o tratamento da Hepatite C, sendo posteriormente usado como uma droga de reposição para o Ebola (Martinez, 2020; Mulangu *et al.*, 2019). O remdesivir tem a capacidade de gerar metabólitos que inibem a replicação do SC2 por inibir a RdRp, sendo o melhor candidato no tratamento da COVID-19 (Sukeishi *et al.*, 2022, Wu *et al.*, 2022). No entanto, estudos sobre a eficácia e a segurança do fármaco para pacientes hospitalizados precisam ser mais bem explorados (Wu *et al.*, 2022). Outro antiviral importante é o Molnupiravir. Este foi o primeiro fármaco oral autorizado para o tratamento da COVID-19, no Reino Unido, em 2021, com potencial para reduzir o risco de morte em até 89% (Wise, 2022; Jayk Bernal e colaboradores (2022). O Paxlovid (Pfizer, USA) é uma combinação do ritonavir com o nirmatrelvir e ele se caracteriza como um inibidor de protease do SC2. Em 2023, o fármaco foi aprovado pelo FDA como um antiviral de tratamento para a COVID-19 (Harris, 2023).

Outra terapia bastante utilizada foi a do uso de anticorpos monoclonais, que suplementa a resposta humoral do paciente, auxiliando o corpo a identificar partículas virais do SC2 (Chary *et al.*, 2023). Alguns exemplos de anticorpos aprovados para uso pelo FDA para pacientes imunocomprometidos não hospitalizados com alto risco de progressão dos sintomas da COVID-19 são: sotrovimab, bamlanivimab/etesevimab e casirivimab/imdevimab (Chary *et al.*, 2023).

## **2.8 Testagem diagnóstica para COVID-19**

O diagnóstico precoce é crucial para prevenir a propagação do vírus e controlar a insurgência de possíveis novas ondas de COVID-19 (Vandenberg *et al.*, 2021). Uma das abordagens de maior consenso entre os tratamentos em teste contra a doença é o seu diagnóstico inicial. Por isso, aperfeiçoar as técnicas diagnósticas já existentes e desenvolver novos métodos rápidos, sensíveis e específicos de detecção do SC2 é fundamental para o combate à COVID-19 (Fernandes *et al.*, 2022).

Os testes de amplificação de ácidos nucleicos são os ensaios moleculares mais sensíveis para a detecção do SC2, especialmente no início da infecção (Rai *et al.*, 2021). A reação da transcriptase reversa seguida da reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR) é uma técnica de amplificação gênica, que permite quantificar com precisão a presença de ácidos nucleicos específicos a partir da detecção por fluorescência (Guo; Wu, 2024). Considerado o padrão ouro para detecção do SC2 (Jung *et al.*, 2020), o RT-qPCR teve seus protocolos autorizados pela OMS a fim de auxiliar no diagnóstico, controle da propagação e vigilância epidemiológica da doença (Fernandes *et al.*, 2022). Apesar da alta sensibilidade e especificidade da técnica de RT-qPCR, o custo, a complexidade da execução da técnica e a necessidade de se dispor de um laboratório bem equipado limitam seu uso (Rong *et al.*, 2023). Além do RT-qPCR, existem outros testes moleculares bem robustos possíveis de serem aplicados, como PCR *End-Point*, PCR digital e a amplificação isotérmica mediada por *loop* (RT-LAMP), (Choi *et al.*, 2023, Taleghani; Taghipour, 2021, Nyaruaba *et al.*, 2022).

No início da pandemia de COVID-19, os testes baseados em anticorpos foram amplamente utilizados para complementar o RT-qPCR. Eles ofereciam uma alternativa para reduzir os falsos negativos em pacientes hospitalizados com a doença em fase tardia e carga viral menor (Ravi *et al.*, 2020). Esses imunoenaios são métodos de diagnóstico baseados na interação específica entre anticorpos e antígenos, sendo largamente utilizados para detectar diversas biomoléculas, como antígenos virais e anticorpos (Filchakova *et al.*, 2022). Essa modalidade de imunoenaios também foi aplicada na área de pesquisa soropidemiológica, auxiliando a análise de prevalência da infecção e a identificação de casos assintomáticos, especialmente quando o monitoramento desses casos era falho (Ravi *et al.*, 2020). Os testes disponíveis comercialmente detectam imunoglobulinas M (IgM) e G (IgG) em soro, plasma ou sangue total, fornecendo informações sobre a resposta humoral do indivíduo à infecção viral. A mediana de soroconversão ocorre entre o 10º e o 13º dia após o início dos sintomas para o IgM e entre 12 e 15 dias para o IgG, com o pico de soroconversão para IgM, IgG e anticorpos totais ocorrendo após duas semanas (Liu *et al.*, 2022; Kubota *et al.*, 2021).

Dessa forma, esses imunodiagnósticos se destacam por sua rapidez, adaptabilidade e variedade de métodos, além de serem facilmente adaptáveis à automação e à realização de testes em locais remotos ou como autotestes (Fernandes *et al.*, 2022).

Com a pandemia de COVID-19, a necessidade de detectar a infecção viral de forma rápida e eficiente impulsionou o desenvolvimento de diversos imunodiagnósticos de SC2 com diferentes metodologias, como os imunoenaios de fase sólida (SPIAs, do inglês *solid-phase immunoassays*) e os imunoenaios de fluxo lateral (LFIA, do inglês *lateral-flow immunassays*) (Perveen *et al.*, 2023, Kropaneva *et al.*, 2023).

Os SPIAs se referem à adsorção de um antígeno ou anticorpo em uma fase sólida, como microplacas ou micropartículas. A reação positiva é detectada por colorimetria em ensaios imunoabsorventes ligados a enzimas (ELISA, do inglês *enzyme-linked immunosorbent assay*) ou por imunoenaios de quimioluminescência (CLIA, do inglês *chemiluminescent immunoassays*) (Mohit; Rostami; Vahidi, 2021; Ghaffari *et al.*, 2020).

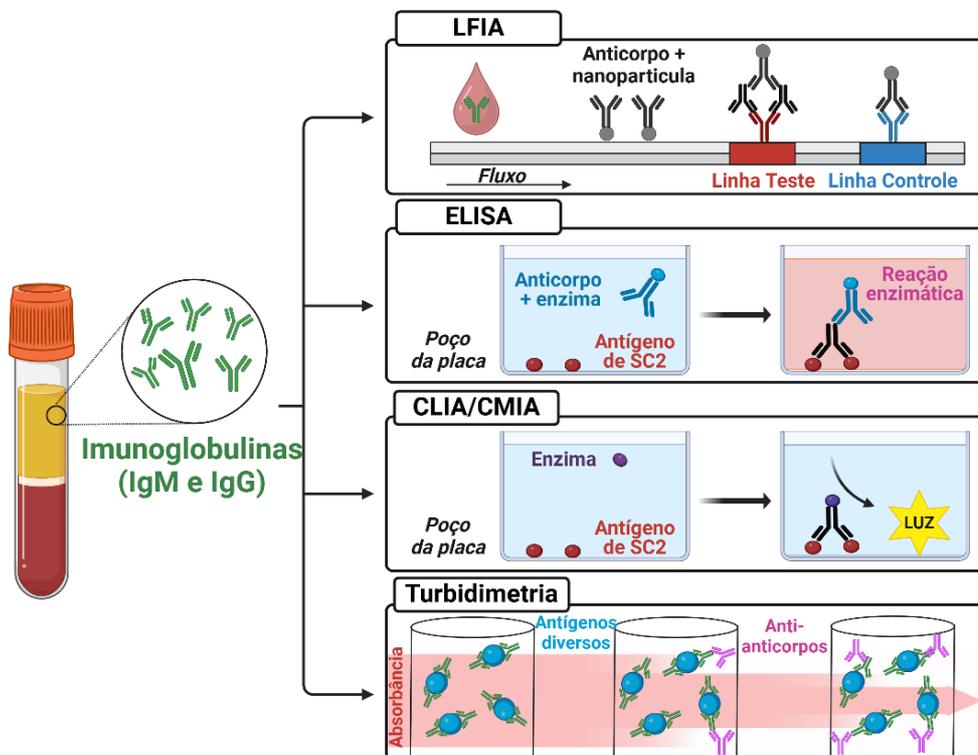
Os testes de LFIA são rápidos, de fácil leitura e geralmente realizados em tiras de papel. Eles utilizam anticorpos marcados com nanopartículas coloidais, que migram por capilaridade pela tira do teste, reagindo com o antígeno ou anticorpo da amostra do paciente. Essa simplicidade os torna ideais para triagem em larga escala e para testes em locais de atendimento ao paciente. (Filchakova *et al.*, 2022). O ELISA é um método de imunoensaio que se baseia na reação entre antígenos específicos e anticorpos. A visibilidade e a quantificação do resultado são possíveis devido à reação enzimática (Alhamid *et al.*, 2022). CLIA é um teste de laboratório que combina quimioluminescência (uma radiação eletromagnética causada por reação química para produzir luz) com um complexo imunológico antígeno-anticorpo (Alhamid *et al.*, 2022).

As superfícies experimentais dos testes de ELISA e de CLIA já apresentam o antígeno para SC2 ligado nelas. Assim, quando o soro do paciente passa por essa superfície, os anticorpos presentes nele se liga a esses antígenos (Kontou *et al.*, 2020). No ensaio de ELISA, os anticorpos secundários marcados com a enzima se ligam aos anticorpos do paciente (Habli *et al.*, 2021). Enquanto no método de CLIA, algumas enzimas se ligam diretamente aos anticorpos dos pacientes (Liu *et al.*, 2022). A função dessas enzimas é catalisar as reações dos substratos específicos da técnica, que são quimioluminescentes. No ELISA, essa reação leva a uma mudança de cor mensurável, enquanto em CLIA, diferentes níveis de intensidade de luz fluorescente são emitidos, o que, a depender dessa intensidade de luz, torna possível identificar a quantidade de anticorpos presentes no organismo do paciente (Chen *et al.*, 2023; Filchakova *et al.*, 2022). A taxa de especificidade para detecção de anticorpos IgG depois de duas semanas

do início dos sintomas, a partir do uso do método de CLIA, é maior que 90%, enquanto essa especificidade para os ensaios de ELISA costuma variar entre 50 e 100% (Filchakova *et al.*, 2022). Assim, ELISA e CLIA são largamente utilizados em rotinas clínicas devido a sua sensibilidade, especificidade e possibilidade de automação (Maghrabey *et al.*, 2023).

Os complexos imunológicos formados na solução de uma amostra de sangue dispersam a luz proporcionalmente ao seu tamanho, forma e concentração. Os turbidímetros foram preparados para medir a redução da incidência da luz com o reflexo, a absorção ou a dispersão. A redução da intensidade da luz transmitida, ou aumento da absorbância, através das partículas suspensas na solução, é o resultado dos complexos formados durante a reação antígeno-anticorpo. Quanto maior a absorbância, maior a titulação do anticorpo na amostra. Assim, ensaios de turbidimetria também são importantes ferramentas para avaliações dos níveis séricos de anticorpos e constituem alternativa aos outros ensaios discutidos (Jaquemar *et al.*, 2023). Os principais ensaios foram ilustrados na Figura 05.

Figura 05 – Principais imunoenaios baseados na detecção de anticorpos específicos anti-SC2



## **2.9 População de doadores de sangue no contexto da pandemia da COVID-19**

### **2.9.1 População de doadores de sangue no Brasil**

A doação de sangue é um ato altruísta e voluntário de extrema importância para manter o estoque mínimo de hemocomponentes utilizados nos sistemas de saúde. Cada bolsa coletada, com 450 mL de sangue, pode ajudar até quatro pessoas (Farias *et al.*, 2017; Brasil, 2015). Assim, a doação de sangue funciona como forma de suporte aos pacientes clínicos e cirúrgicos, que necessitam de hemocomponentes para o tratamento de transtornos e enfermidades graves, que não podem ser corrigidos pelo uso de fármacos (De Lima Arruda *et al.*, 2019). A regulamentação da doação de sangue no Brasil passou por diversas modificações ao longo dos anos, que tiveram como consequência um marco de grande destaque na legislação das doações de sangue. A publicação da lei 7.649/1988, que tornou obrigatório o cadastro dos doadores de sangue e a realização de exames laboratoriais para todo sangue doado, representou um marco importante na história da doação de sangue no país, pois visou a segurança dos receptores (Brasil, 1988).

O Ministério da Saúde relatou, no ano de 2019, que apenas 1,71% da população brasileira era doadora de sangue, o que estava menor que a meta ideal de 3% (Anvisa, 2021; Salamea-Molina *et al.*, 2020; Ministério da Saúde, 2020; WHO; PAHO, 2016). Do total de doadores de sangue em 2019, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), cerca de 60% são do sexo masculino, enquanto 40% são do sexo feminino. A faixa etária mais frequente conta com um total de 62% de doadores com idades maiores que 29 anos (Anvisa, 2021). Historicamente, o Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) registra em média mais de 10.000 doações de sangue por mês e um total anual em torno de 120.000, sendo que aproximadamente 40% concentradas no município de Fortaleza.

### **2.9.2 Impacto da pandemia da COVID-19 na doação de sangue no Ceará**

Com a emergência da pandemia da COVID-19, a captação de hemocomponentes em todo o Brasil apresentaram uma sensível queda devido à diminuição no número de doações de sangue (Silva-Malta *et al.*, 2021). No Ceará, algumas estratégias foram introduzidas pelo hemocentro coordenador de Fortaleza para mitigar o desabastecimento de hemocomponentes, principalmente nos anos iniciais de 2020 e 2021 (Oliveira *et al.*, 2022). Fortaleza foi o primeiro grande centro do estado do Ceará a sofrer os impactos

diretos da pandemia (Ximenes *et al.*, 2020). Durante esse período, os hemocentros regionais, localizados no interior, em cidades como Crato, Quixadá, Iguatu e Sobral, mantiveram um número satisfatório de doações, suprindo as necessidades do Ceará (Oliveira *et al.*, 2022). Com o avanço da pandemia no interior do estado, medidas de contingenciamento e mitigação foram implementadas para se garantir a biossegurança dos doadores e a manutenção dos estoques de hemocomponentes (Oliveira *et al.*, 2022);

A partir de abril de 2020, o HEMOCE estabeleceu um laboratório para diagnóstico molecular da COVID-19 em suas dependências, passando a realizar e a oferecer exames por detecção molecular de SC-2, além da testagem indireta sanguínea por meio de testes rápidos imunocromatográficos de anticorpos anti-SC2 (Hemoce, 2020a) e posteriormente de exames sorológicos de anticorpos IgG específicos por plataformas automatizadas (Hemoce, 2020b)

## **2.10 Relevância do Estudo**

Em se tratando de uma população com maior rigor de monitoramento e alta granularidade de dados, como os relacionados ao histórico demográfico, a realização de um estudo soroepidemiológico centrado em doadores de sangue é plenamente justificado. Isso ocorre principalmente devido ao seu potencial de geração de dados objetivos, o que retrata o cenário epidemiológico da região em diferentes momentos. Outro fator a se considerar é a disponibilidade de amostras biológicas, que ocorreu mesmo diante de um contexto sanitário muito restritivo, como foi o do *lockdown*, o que tornou possível, portanto, a avaliação serial de parâmetros da resposta imunológica associada à exposição/infecção viral do SC2 e os sucessivos ciclos de imunização contra a COVID-19 (Prete Jr *et al.*, 2022). Desta forma, ao fazer uso de estratégias versáteis, como as baseadas no monitoramento da população de doadores de sangue, reitera-se a importância da realização deste estudo na geração de uma base de conhecimentos relevantes aplicáveis à população geral, além da potencial identificação de novas evidências associadas à variabilidade da resposta imunológica populacional em um contexto pandêmico e pós-pandêmico em Fortaleza.

A partir da seleção racional do segmento de doadores, da coleta de informações e do aproveitamento racional de amostras biológicas de doadores de sangue de Fortaleza, este estudo propôs potencializar uma avaliação extensiva do perfil sorológico e de resposta humoral anti-SC2 em um segmento de doadores de sangue do município de

Fortaleza desde a emergência da pandemia em 2020, encontrando embasamento científico em outras iniciativas realizadas (Júnior, 2021; Lima, 2022).

### **2.11 Hipótese do estudo**

Os títulos e a eficácia da resposta imune-humoral do segmento de doadores de sangue de Fortaleza contra o SC2 e suas variantes variam de acordo com a exposição ao antígeno viral.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Investigar associações do perfil imunológico adaptativo em subgrupos de doadores de sangue do município de Fortaleza, entre 2020 e 2024, com o impacto do SC2 e suas variantes de preocupação, correlacionando os resultados com a exposição e a vacinação desses indivíduos.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

I) Rastrear os perfis da resposta imunológica de anticorpos IgG anti-N e anti-S contra o SC2, a partir de dados de um inquérito soropidemiológico multicêntrico de 2020 a 2022, a fim de triar perfis específicos de indivíduos para constituição de uma coorte longitudinal prospectiva de doadores de sangue.

II) Avaliar e monitorar padrões de soroconversão e manutenção nos níveis de anticorpos IgG anti-SC2 em subgrupos de doadores de sangue, a fim de determinar alterações pareadas nos perfis humorais e avaliar a influência da vacinação ao longo do tempo.

III) Associar, transversalmente, os títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 com os impactos autodeclarados em um subgrupo recrutado de doadores de sangue, associando possíveis impactos da pandemia com a vacinação e a saúde física e mental desse segmento populacional.

IV) Avaliar a taxa de anticorpos neutralizantes para as variantes GK.1 e JN.1 no segmento transversal de doadores recrutados, associando seus resultados com os títulos de anticorpos gerais e com os específicos contra o SC2, a fim de analisar a capacidade de neutralização dos anticorpos no período pré e durante a prevalência da VOC JN.1 em Fortaleza.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

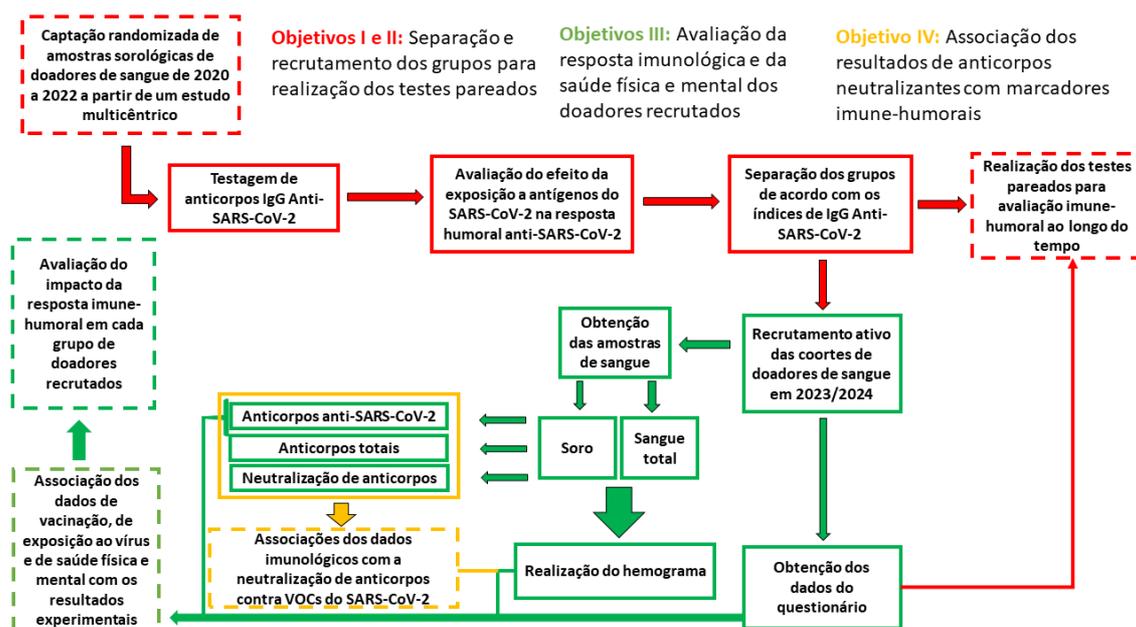
### 4.1 Aspectos éticos

O estudo faz parte de um projeto intitulado “Biossegurança do Sangue e Componentes, Inovação em Saúde no Ceará – Estudo Bioscience”, que engloba a avaliação da segurança de elementos do sangue para patologias, como as arboviroses e COVID-19. O projeto se encontra devidamente aprovado pelo Conselho Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) e pelo Comitê de Ética de Pesquisa (CEP) da Secretaria da Saúde do Estado do Ceará (ref. 22873219.0.0000.8152) (Apêndice A). Todos os dados foram coletados mediante questionário eletrônico e assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice B).

### 4.2 Tipo de estudo e desenho experimental

Trata-se de um estudo de coortes prospectivas. Nele, foi inicialmente avaliado os eventos de presença e ausência de exposição ao SC2, a partir da análise sorológica de anticorpos IgG Anti-SC2 de amostras de doadores de sangue obtidas por conveniência em 2020. Posteriormente, avaliou-se a evolução da resposta humoral de anticorpos dos doadores de sangue ao longo dos anos de 2021 e 2022. Por fim, a partir de 2023, foram definidos os grupos com os doadores que iriam compor as coortes do estudo, a partir do recrutamento ativo desses doadores no Hemoce durante esse período. O desenho experimental está na Figura 06.

Figura 06 – Desenho experimental do estudo.



### 4.3 Processamento inicial das amostras de doadores de sangue a partir de um estudo multicêntrico

#### 4.3.1 Interpretação de resultados retrospectivos

Dados provenientes de amostras de soro de doadores coletadas entre março de 2020 a dezembro de 2022 como parte de um projeto multicêntrico e transversal coordenado pelo Instituto Pró-sangue, foram cedidos pelo Hemoce para a complementação dos resultados deste estudo, a fim de continuá-lo. As amostras foram selecionadas por randomização após georreferenciamento, que considerou o CEP da residência dos doadores e a taxa populacional em cada região avaliada, de acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) (IBGE, 2010). Foram coletados dados quantitativos de anticorpos IgG anti-SC2 avaliados pelo imunoensaio de CLIA específicos para o reconhecimento da proteína N (até junho de 2021, n=17.780) ou S (a partir de julho de 2021, n=10.767), utilizando, respectivamente, os kits comerciais *SC2 anti-N Quant Reagent* e *SC2 IgG II Quant (Abbott)*.

Os resultados relativos à titulação dos anticorpos IgG anti-N foram interpretados de acordo com as instruções do fabricante e as recomendações propostas por Júnior (2021). Já os resultados da titulação dos anticorpos IgG anti-S foram interpretados conforme as padronizações estabelecidas pela OMS e divididos entre baixo, médio e alto índice de anticorpos, com valores de corte baseados nas probabilidades de neutralização descritas na bula do fabricante. Todos os valores estão expressos na Tabela 04.

Tabela 04 – Interpretação dos resultados de acordo com os valores de anticorpos IgG anti-SC2

Alvo	Interpretação do resultado	Valores de corte
IgG anti-N (Index (S/C))*	Não Reagente	<1,4
	Reagente	≥1,4 e <5,79
	Alto Reagente	≥5,79
IgG anti-S (BAU/mL)**	Baixo	<15.140,84
	Médio	≥15.140,84 e <140.845,07
	Alto	≥140.845,07

Fonte: Adaptado de Abbott (2020) e Júnior (2021)

\* S/C: *Signal-to-cutoff*, \*\* 1 BAU/mL = 0,142 AU/mL (OMS, 2021)

## 4.4 Obtenção de amostras no período pós-pandemia

### 4.4.1. Recrutamento de doadores e obtenção de dados

Os resultados interpretados na Tabela 04 – Não reagente, reagente e alto reagente para o IgG anti-N e baixo, médio e alto para o IgG anti-S - foram utilizados para selecionar e classificar os participantes a serem recrutados por conveniência no Hemoce durante nova doação de sangue, entre setembro de 2023 e abril de 2024. Nesta etapa, um total de 323 doadores de sangue foram recrutados. Após assinatura do TCLE, dados relativos ao histórico autodeclarado de diagnóstico de COVID-19, sintomas clínicos pós-COVID, uso de suporte respiratório durante infecção e imunizações contra o SC2.

Posteriormente, dados relativos à qualidade de vida geral dos participantes no período pós-pandêmico foram coletados com base na adaptação do questionário sf-6d desenvolvido por Campolina e colaboradores (2010) (Anexo A). A avaliação da capacidade funcional foi a primeira a ser feita no momento da entrevista. O doador tinha de responder como ele se sentia dentre as opções descritas na Tabela 05, e para cada estado escolhido foi atribuído um *score*. O procedimento se repetiu para as análises de saúde mental e vitalidade. Quanto mais próximo de 100, mais saudável o doador se encaixava para este parâmetro.

Tabela 05 – *Scores* atribuídos às respostas declaradas pelos doadores durante o recrutamento para a avaliação da Capacidade Funcional, Saúde Mental e Vitalidade

<b>Capacidade Funcional</b>	
<b>Resposta apresentada</b>	<b>Score</b>
Sua saúde não dificulta que você faça atividades vigorosas	100
Sua saúde dificulta um pouco que você faça atividades vigorosas	80
Sua saúde dificulta um pouco que você faça atividades moderadas	60
Sua saúde dificulta muito que você faça atividades moderadas	40
Sua saúde dificulta um pouco para você fazer atividades simples	20
Sua saúde dificulta muito para você fazer atividades simples	0

<b>Saúde Mental</b>	
---------------------	--

<b>Resposta apresentada</b>	<b>Score</b>
Nenhuma dificuldade emocional, você se sente muito bem	100
Pouca dificuldade emocional, mas você consegue lidar bem	80
Alguma dificuldade emocional, às vezes você se sente triste ou preocupado	60
Dificuldade moderada, você sente tristeza ou ansiedade com frequência	40
Dificuldade significativa, você sente tristeza ou ansiedade na maior parte do tempo	20
Dificuldade grave, você se sente sobrecarregado emocionalmente o tempo todo e não consegue lidar	0

### **Vitalidade**

<b>Resposta apresentada</b>	<b>Score</b>
Você tem se sentido com muita energia o tempo todo	100
Você tem se sentido com muita energia na maior parte do tempo	80
Você tem se sentido com muita energia em parte do tempo	60
Você tem se sentido com muita energia em alguma parte do tempo	40
Você tem se sentido com muita energia em uma pequena parte do tempo	20
Você nunca tem se sentido com muita energia	0

Fonte: Adaptado de Campolina *et al.* (2010)

Todas as informações foram coletadas e armazenadas por meio de formulário eletrônico desenvolvido em *software* para coleta e armazenamento de dados clínicos - REDCap.

#### **4.4.2. Coleta de amostras e critérios de exclusão**

Após, para cada participante do estudo, foi coletado um tubo adicional de 5 mL, com gel separador, para a sorologia, e um tubo adicional K2 de 4 mL, com EDTA, para sangue total, durante o fluxo de doação. As amostras com volumes insuficientes ou sem dados relativos ao histórico de imunização foram desconsideradas. Para as análises pareadas, foram realizadas: i) a média dos resultados dos níveis de anticorpos das amostras de um mesmo doador coletadas em um mesmo ano para as análises de variação de anticorpos ao longo do tempo e ii) a média dos resultados dos níveis de anticorpos das

amostras de um mesmo doador coletadas em um mesmo ponto de vacinação para as análises do impacto da vacinação na variação de anticorpos. Posteriormente, as amostras foram armazenadas no biorrepositório a -80 °C.

#### **4.5. Hemograma para avaliação do número de leucócitos e linfócitos**

Amostras de sangue total foram homogeneizadas e processadas em até 6 horas após a coleta. Após o cadastro das amostras no sistema *softlab*, estas foram encaminhadas ao setor de hematologia do Hemoce, para realização de hemograma no equipamento Siemens ADVIA 2120®, com quantificação automática e análise diferencial para contagem de leucócitos e linfócitos, conforme procedimento padrão da instituição, utilizando os valores de referência para a população brasileira (leucócitos: 5.000 e 10.000/mm<sup>3</sup> e linfócitos: 1.500 e 4.500/mm<sup>3</sup>)

#### **4.6 Testes de neutralização de redução de placa para as subvariantes GK.1 e JN.1 do SC2**

Ao fim do recrutamento, foram selecionadas 28 amostras de soro para a realização do ensaio, dentre elas 12 com datas de coleta de setembro e outubro de 2023, período anterior à introdução da JN.1 no Ceará, e 16 com coletas durante o avanço dos casos da linhagem no Estado. Os testes de neutralização de redução de placa (PRNT, do inglês *Plaque Reduction Neutralization Test*) foram realizados como descritos por Pauvolid-Correa e colaboradores (2022) com modificações. As amostras de soro foram aquecidas (56°C; 30 min) e o ensaio de neutralização foi realizado em células Vero (ATCC CCL 81), mantidas em meio de cultura suplementado com soro fetal bovino, bicarbonato de sódio, antibióticos/antimicóticos e, posteriormente, incubadas (5% de CO<sub>2</sub>; 37°C).

As amostras de soro aquecidas foram testadas em duplicata, com diluições seriadas de duas vezes, que variaram de 1:10 até 1:320. Cada diluição foi homogeneizada em 40 a 60 unidades formadoras de placa (PFU, do inglês *Plaques forming units*) do isolado de SC2 – feito de modo separado para cada subvariante testada (GK.1 e JN.1). A mescla de vírus com o soro foi colocada em monocamada celular de células Vero e as amostras foram incubadas (1h; 37°C). Após, o meio de cultura contendo 0,5% de agarose ultrapura foi sobreposto em cada poço utilizado e as amostras foram incubadas novamente (72 horas; 5% de CO<sub>2</sub>; 37°C). Após 48 horas desta última incubação, adicionou-se um novo meio de cultura com agarose e solução vermelha neutra, que seguiu para as últimas 24 horas de incubação seguinte. Por fim, as PFUs foram visualizadas e contadas em um

transluminador. Para cada experimento de neutralização, um controle (sem soro) e um soro de referência foi usado para garantir a reprodutibilidade entre os diferentes experimentos.

As amostras de soro foram consideradas “reativas” às linhagens testadas ao SC2 quando uma diluição de pelo menos 1:20 conseguia reduzir pelo menos 90% (PRNT<sub>90</sub>) do PFU do SC2. Os testes foram realizados em Laboratório com Nível de Biossegurança 3, com o grupo do Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo da Fiocruz do Rio de Janeiro.

#### **4.7 Processamento das amostras por testagem de anticorpos específicos anti-SC2**

As amostras sorológicas dos participantes recrutados em 2023 e 2024 foram submetidas ao teste de quimioluminescência para detecção de anticorpos IgG anti-SC2. Para as coortes com resultados retrospectivos avaliados em relação aos índices de anticorpos IgG anti-N, novos ensaios foram realizados utilizando o mesmo kit. Já a testagem de anticorpos IgG anti-S foi feita com as amostras de todos os doadores recrutados da coorte. Isso ocorreu devido à descontinuidade, pela *Abbott*, do *kit* para avaliação de IgG anti-N supracitado.

#### **4.8 Processamento das amostras para testes de anticorpos totais**

As amostras de soro selecionadas foram utilizadas para ensaios de titulação de anticorpos totais. A titulação de IgA, IgM e IgG totais foi realizada pela técnica de turbidimetria, utilizando os *kits Imunoglobulina A (IgA)* (n=28) para a detecção de IgA total sérico; *Imunoglobulina M (IgM)* (n=28) para a detecção de IgM total sérico e o *Imunoglobulina G (IgG)* (n=323) para a detecção de IgG total sérico (Beckman Coulter) no equipamento AU5800 (Beckman Coulter). A titulação de IgE (n=28) foi realizada por quimioluminescência, pela técnica de CLIA, com o *kit Immulite® 2000 Total IgE* (Siemens) no equipamento Immulite (Siemens).

#### **4.9 Separação de células mononucleares do sangue periférico**

Entre os meses de fevereiro e abril de 2024, realizou-se um recrutamento ativo dos doadores de sangue que participaram do estudo conduzido entre 2020 e 2022, utilizando como critérios o nível de anticorpos IgG anti-S. Uma lista com 500 doadores foi convocada para a participação do estudo. Doadores com baixo, médio e alto nível de anticorpos IgG anti-S, bem como doadores sem registros de vacinação (Não imunizados)

com qualquer título de anticorpos, foram convidados para a avaliação dos padrões celulares de linfócitos e plasmócitos por citometria de fluxo (ver Tabela 14 na seção 8). Após recrutamento, aplicação do TCLE e do questionário eletrônico, os participantes foram submetidos a uma coleta de soro e sangue total.

#### **4.9.2 Separação e criopreservação das CMSPs**

As amostras coletadas foram encaminhadas para o Centro de Diagnóstico Clínico do Hemoce para a aplicação do protocolo de separação das Células Mononucleadas de Sangue Periférico (CMSPs). Os 2 tubos de EDTA com sangue total foram homogeneizados e diluídos em tampão fosfato-salino (PBS, do inglês *Phosphate Buffered Saline*) na proporção 1:1. A amostra diluída foi colocada em tubos *Falcon* com 10 mL de Ficoll e seguiram para a centrifugação (2.300 rpm; 30 min; 4°C, com aceleração e desaceleração de 1) para separação por gradiente de concentração. As CMSPs foram coletadas e lavadas com 15 mL de PBS 1X, sendo posteriormente centrifugadas (1.700 rpm; 10 min; 4 °C, com aceleração e desaceleração de 9). O sobrenadante foi descartado e o *pellet* lavado com 15 mL de meio de cultura *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB). As amostras foram novamente centrifugadas, o sobrenadante foi descartado e o *pellet* foi ressuscitado em 5 mL de solução PBS 1X. A contagem de células foi feita em câmara de Neubauer. Após, as amostras foram ressuscitadas em solução de congelamento, contendo 40% de RPMI, 50% de SFB inativado e 10% de dimetilsulfóxido (DMSO) e congeladas a -80 °C com o auxílio de um *Mr. Frosty* por 24 h. Por fim, as amostras foram transferidas para o nitrogênio líquido para futuros testes por painel de citometria.

#### **4.10 Análises Estatísticas**

Os resultados foram integrados em uma base de dados na plataforma *Research Electronic Data Capture* (REDCap), utilizada para a coleta dos dados do questionário eletrônico e gerenciamento dos resultados do estudo. Para os dados de anticorpos específicos contra o SC2; variáveis autodeclaradas; titulações dos anticorpos totais e resultados de PRNT<sub>90</sub>, foi realizado o teste de normalidade de Anderson-Darling ou de Komogorov-Smirnov, a depender do número amostral. Ao seguirem a condição de normalidade, não pareamento dos dados e diferença aceitável de variabilidade entre os grupos, a comparação das médias entre eles foi feita pelos métodos *one-way* ANOVA com *pos-hoc* de Dunnet para comparações de mais de dois grupos e o teste t-*Student* para

comparação de dois grupos entre si. Quando análise pareada, as suas versões pareadas foram executadas. No caso de não normalidade e não pareamento das amostras, foi aplicado o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparação de dois grupos entre si, ou Kruskal-Wallis com correção de Bonferroni para comparações demais de dois grupos. Quando pareados, foi aplicado os testes de Wilcoxon para dois grupos entre si ou teste de Friedman com correção de Bonferroni para mais de dois grupos. Foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$  (5%) com intervalos de confiança de 95%. Para análises multivariadas, foi realizado o teste de regressão logística multinomial, em que o pseudo  $R^2$  foi considerado. Para as análises entre variáveis numéricas, foi feito o teste de correlação de Pearson, quando paramétrico, ou de Spearman, quando não paramétrico. As avaliações entre variáveis categóricas foram feitas por meio do teste de Qui-quadrado ou do Teste de Fisher. Para a predição de valores de corte e medidas de sensibilidade e de especificidade, curvas ROC foram construídas entre variáveis numéricas e categóricas e os resultados foram submetidos ao teste de McNemar para comprovação dos valores. Todas as análises estatísticas e os gráficos gerados foram conduzidos no *software* R.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-N

O intuito deste tópico foi o de avaliar, de modo pareado, as variações nos títulos de anticorpos IgG anti-N em um contexto temporal nos doadores contemplados, considerando a influência das infecções e da vacinação pela Coronavac em Fortaleza, a partir de janeiro de 2021. Assim, para a avaliação dos títulos de anticorpos IgG anti-N, um total de 79 doadores (n = 164 amostras) tiveram suas amostras analisadas, de modo pareado, entre os períodos de 2020, 2021 e o pós-pandemia. Os índices de anticorpos foram submetidos ao teste de normalidade de Anderson-Darling, apresentando um quadro de não normalidade dos dados. A frequência total de cada grupo foi mais expressiva no grupo “Não reagente” (n = 108), cuja mediana assumiu um valor de 0,10 Index (S/C), de acordo com o apresentado na Tabela 06. A taxa de “Reagente” (n = 41) assumiu uma mediana de 2,75 Index (S/C), enquanto o de “Alto Reagente” (n = 15) assumiu a mediana de 9,63 Index (S/C), que está bem acima do corte para este grupo (5,79 Index (S/C)).

Tabela 06 – Quantitativos de amostras referentes a cada grupo de amostras de IgG anti-N do estudo com seus respectivos valores de mediana

	<i>Freq.(n)</i>	<i>Percent. (%)</i>	<i>Mediana (Index (S/C))</i>
<b>Não Reagente</b>	108	65,86	0,10
<b>Reagente</b>	41	25,00	2,75
<b>Alto Reagente</b>	15	9,14	9,63
<b>Total</b>	<b>164</b>	<b>100</b>	

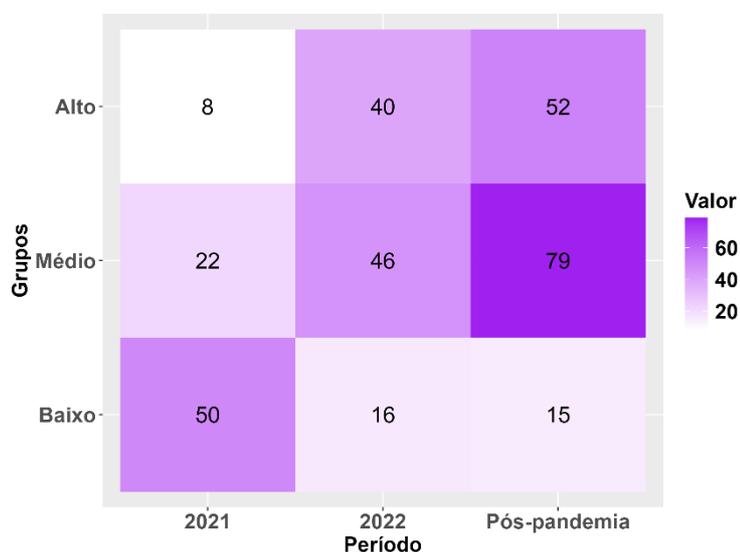
#### 5.1.1 Associação pareada dos índices de IgG anti-N ao longo do tempo

A frequência amostral foi próxima entre os períodos de 2020 (n = 55), 2021 (n = 52) e o de pós-pandemia (n = 56). A mediana total aumentou ao longo do tempo e apresentou um valor “reagente” no período pós-pandêmico, o que pode ser influência direta das novas infecções, reinfecções e do início da vacinação em janeiro de 2021, que começou com a Coronavac nos primeiros meses, fatores que podem ter afetado os níveis de IgG anti-N neste período (Díaz-Dinamarca *et al.*, 2023). A frequência de doadores com o passar dos anos se redistribuiu entre os grupos, de modo que se pôde observar um aumento no número de “Reagentes” e “Alto Reagentes” no período pós-pandêmico, assim como descreve a Tabela 07 e a Figura 07.

Tabela 07 – Quantitativos das amostras testadas para IgG anti-N e estratificados por períodos.

<i>Períodos</i>	<i>Grupos</i>	<i>Freq.(n)</i>	<i>Percent.(%)</i>	<i>Mediana (Index (S/C))</i>
<b>2020</b>	Não Reagente	43	78,19	0,06
	Reagente	10	18,18	
	Alto Reagente	2	3,63	
<b>Total</b>		<b>55</b>	<b>100</b>	
<b>2021</b>	Não Reagente	38	73,09	0,18
	Reagente	12	23,07	
	Alto Reagente	2	3,84	
<b>Total</b>		<b>52</b>	<b>100</b>	
<b>Pós-pandemia</b>	Não Reagente	27	48,23	1,70
	Reagente	19	33,92	
	Alto Reagente	10	17,85	
<b>Total</b>		<b>56</b>	<b>100</b>	

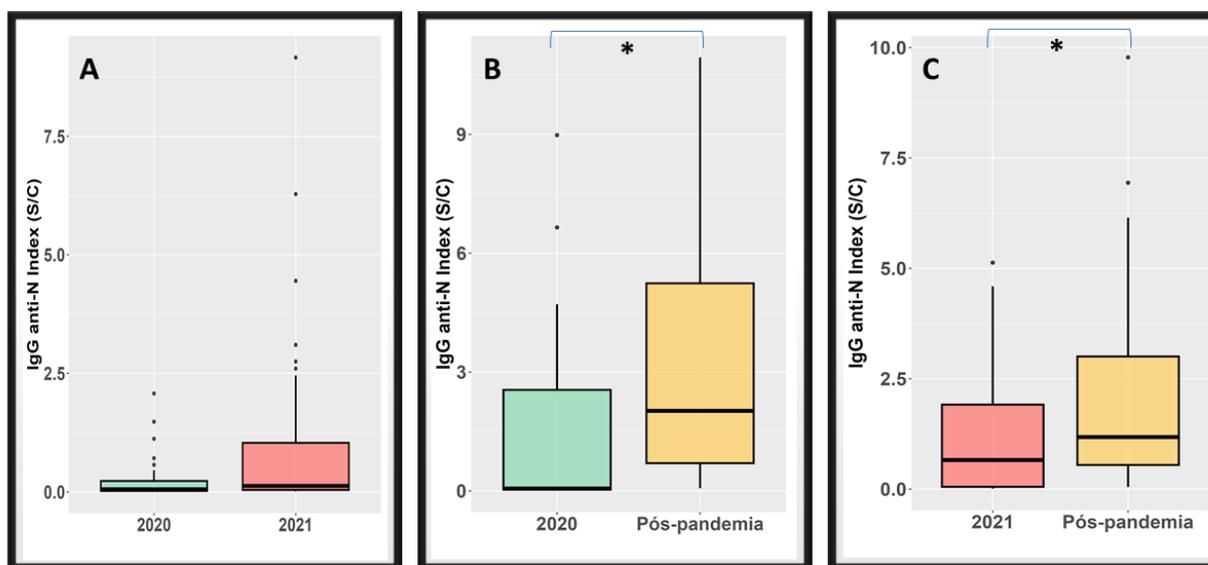
Figura 07 – Heatmap da frequência de amostras com IgG anti-N em relação aos grupos e aos períodos



O pareamento dos grupos foi feito entre os períodos de 2020, 2021 e pós-pandemia. A análise considerou três agrupamentos diferentes: 2020 com 2021 (n = 28 pares), 2020 com pós-pandemia (n = 33 pares) e 2021 com pós-pandemia (n = 30 pares). Houve significância estatística apenas entre os grupos de 2020 com pós-pandemia

( $p < 0,001$ ) e 2021 com pós-pandemia ( $p < 0,001$ ). O pareamento das amostras avaliadas entre o período de 2020 e 2021 não apresentou diferença estatística ( $p > 0,05$ ). Assim, observou-se que os mesmos indivíduos, que inicialmente apresentavam uma baixa titulação de anticorpos IgG anti-N, experimentaram incrementos significativos no período pós-pandêmico, indicando uma possível influência do processo de desenvolvimento da imunidade híbrida, que resulta da combinação da imunidade desenvolvida por exposição natural ao vírus e pela vacinação (Hall *et al.*, 2022). A avaliação foi representada na Figura 08.

Figura 08 – Avaliação das titulações de anticorpos IgG anti-N contra o SC2 entre (A) 2020 e 2021, (B) 2020 e pós-pandemia e (C) 2021 e pós-pandemia. Foi realizado o teste não paramétrico e pareado de Wilcoxon com correção de Bonferroni para todas as análises.



## 5.2 Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S

Para avaliação dos títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2, um total de 153 doadores ( $n = 328$  amostras) tiveram suas amostras analisadas, de modo pareado, entre 2021, 2022 e o período pós-pandêmico. As titulações de anticorpos das amostras foram submetidas ao teste de normalidade de Anderson-Darling, que constatou a não normalidade dos dados. A frequência entre os grupos apresentou maior expressão nos dados do grupo “Médio” ( $n = 147$ ), cuja mediana assumiu um valor de 46.861,33 BAU/mL (Tabela 08). A mediana do grupo “Baixo” ( $n = 81$ ) apresentou valor de 4.309,15 BAU/mL e a do grupo “Alto” ( $n = 100$ ) apresentou valor de 141.181,33 BAU/mL.

Tabela 08 - Quantitativos de amostras referentes a cada grupo de amostras de IgG anti-S do estudo com seus respectivos valores de mediana

	<i>Freq.(n)</i>	<i>Percent. (%)</i>	<i>Mediana (BAU/mL)</i>
<b>Baixo</b>	81	24,69	4.309,15
<b>Médio</b>	147	44,81	46.861,61
<b>Alto</b>	100	30,48	141.181,33
<b>Total</b>	328	100	

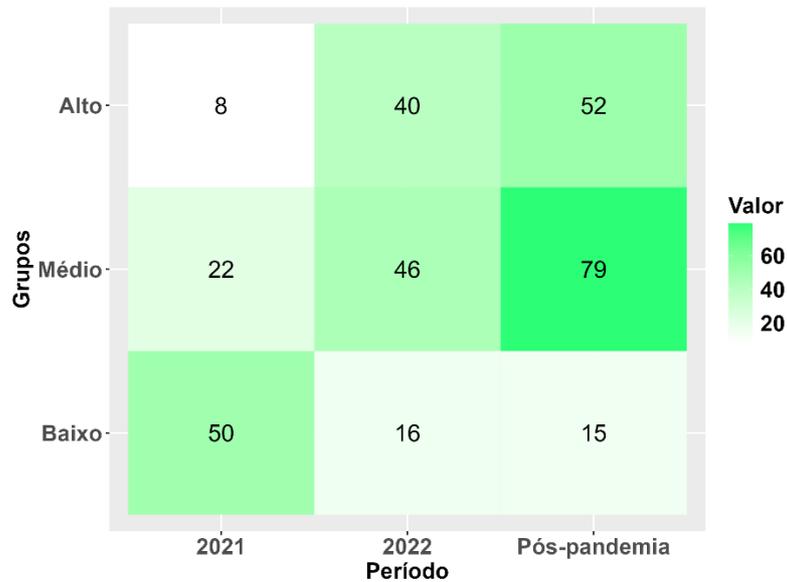
### 5.2.1 - Associação pareada das análises de IgG Anti-S com o tempo

A frequência amostral variou entre os períodos de 2021 (n = 80), 2022 (n = 102) e pós-pandemia (n = 146). A mediana aumentou entre 2021 e 2022, passando do grupo “Baixo” para o “Médio” e não se alterou consideravelmente no período pós-pandemia. As frequências de “Alto” e “Médio” aumentaram com o passar dos anos, enquanto as do grupo “Baixo” reduziram consideravelmente entre os períodos de 2021 e pós-pandemia (Tabela 09) (Figura 09).

Tabela 09 – Quantitativos das amostras testadas para IgG anti-S e estratificados por períodos.

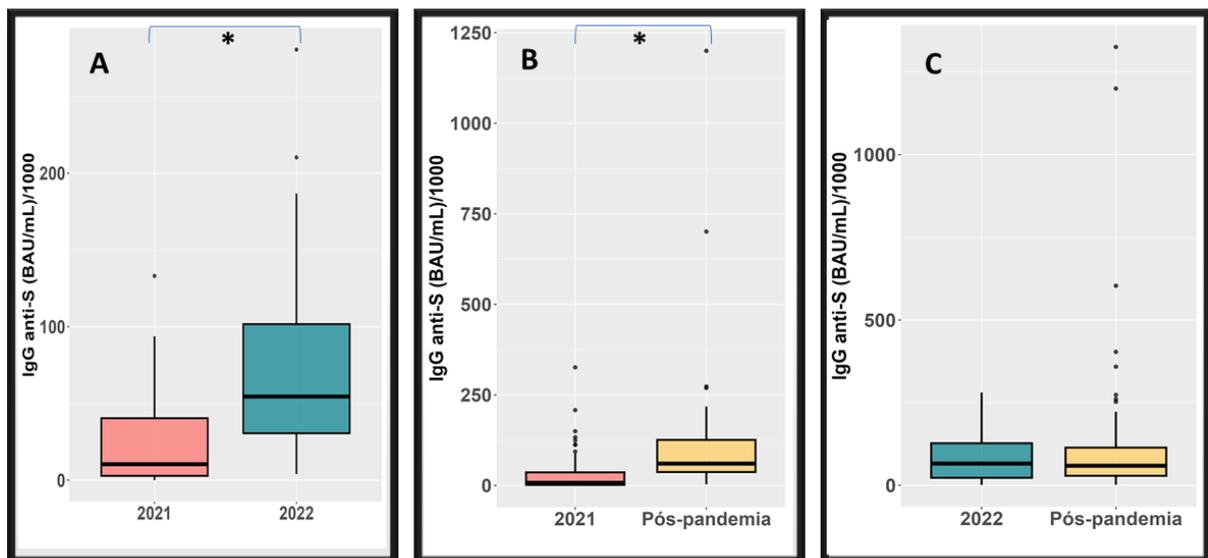
<i>Períodos</i>	<i>Grupos</i>	<i>Freq.</i>	<i>Percent. (%)</i>	<i>Mediana (BAU/mL)</i>
<b>2021</b>	Baixo	50	62,50	7.353,52
	Médio	22	27,50	
	Alto	8	10,00	
<b>Total</b>		80	100	
<b>2022</b>	Baixo	16	15,68	65.783,94
	Médio	46	45,10	
	Alto	40	39,22	
<b>Total</b>		102	100	
<b>Pós-pandemia</b>	Baixo	15	10,27	60.192,25
	Médio	79	54,10	
	Alto	52	35,61	
<b>Total</b>		1466	100	

Figura 09 – Heatmap da frequência de amostras com IgG anti-S em relação aos grupos e aos períodos



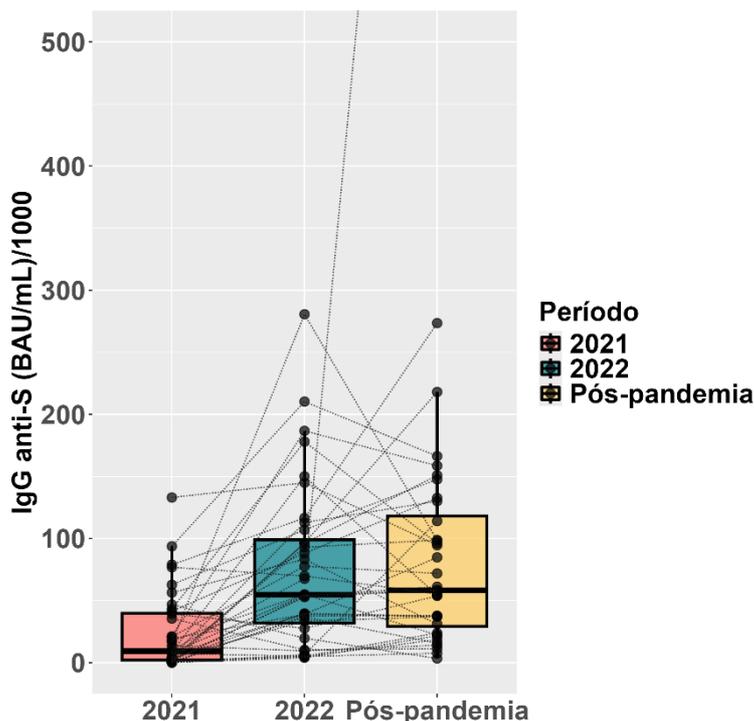
O pareamento dos grupos foi feito entre os períodos de 2021, 2022 e pós-pandemia. A análise considerou quatro agrupamentos diferentes: 2021 com 2022 (n = 35 pares), 2021 com pós-pandemia (n = 80 pares), 2022 com pós-pandemia (n = 102 pares) e 2021 com 2022 e pós-pandemia (n = 36 pares). Houve significância estatística apenas entre os grupos de 2021 com 2022 ( $p < 0,001$ ) e 2021 com pós-pandemia ( $p < 0,001$ ) (Figura 10).

Figura 10 - Avaliação das titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 entre (A) 2021 e 2022, (B) 2021 e pós-pandemia e (C) 2022 e pós-pandemia. Foi realizado o teste não paramétrico pareado de Wilcoxon com correção de Bonferroni para todas as análises.



Para a análise adicional dos 3 grupos pareados, houve significância semelhante ( $p < 0,001$ ) com os testes entre dois grupos (Figura 11), o que sugere que o subgrupo de doadores, em 2022, já apresentava um estado de imunização humoral semelhante ao do período pós-pandêmico.

Figura 11 – Avaliação pareada entre as amostras dos anos de 2021, 2022 e o período pós-pandemia com o acompanhamento correspondente de cada participante do estudo ao longo dos anos pelo box-plot com linhas. Foi realizado o teste de Friedman com pós-teste de Wilcoxon e correção de Bonferroni.



### 5.2.2 Avaliação pareada dos títulos de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal

A avaliação pareada da vacinação visou compreender o impacto dos grupos de vacinação nos títulos de anticorpos IgG anti-S, considerando este um dos principais indicadores da eficácia da vacinação em uma população. Assim, um total de 249 amostras, distribuídas entre os 39 doadores que participaram da análise, foram analisadas, de modo pareado, entre os períodos de 2021, 2022 e pós-pandemia, o que coincidiu com o calendário de vacinação, que prosseguiu até a 5ª dose (Bivalente) para a população geral. Foram considerados 5 agrupamentos – “Não imunizados” ( $n = 30$ ), “Doses iniciais” (1ª e 2ª) ( $n = 73$ ), “Doses de reforço” (3ª e 4ª) ( $n = 94$ ), “Vacinação” (1ª a 4ª) ( $n = 167$ ) e “Bivalente” ( $n = 52$ ), que foram submetidos a 7 comparações entre eles, a fim de avaliar

o impacto das doses aplicadas na resposta humoral de anticorpos IgG anti-S contra o SC2. Os grupos vacinais tiveram variações de frequência dentro dos grupos humorais. Os resultados sugerem que aqueles que não apresentam registros das doses de vacinação tendem a manter os níveis de anticorpos baixos, sem alcançar a categoria “Alto”, indicando que a imunidade por exposição natural não é suficiente para garantir uma proteção humoral adequada (Tabela 10). A mediana aumentou entre um estado vacinal e outro, porém só alcançou o grupo “Médio” no estado “Doses de reforço” (Tabela 10).

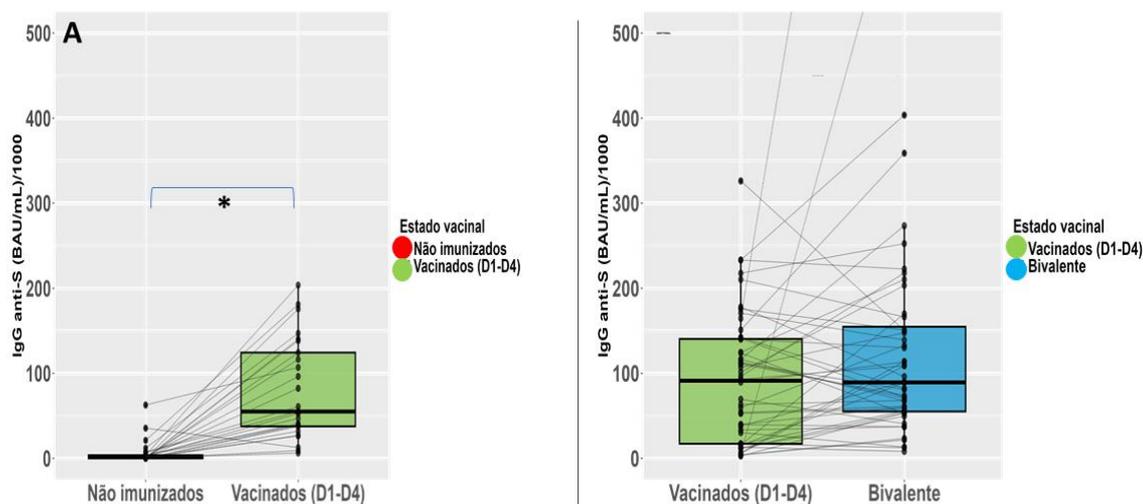
Tabela 10 – Quantitativos de amostras com testes de IgG anti-S realizados por grupos de titulações de anticorpos e status vacinal

<b>Estado vacinal</b>	<b>Grupos</b>	<b>Freq.</b>	<b>Percent. (%)</b>	<b>Mediana (BAU/mL)</b>
<b>Não imunizados</b>	Baixo	26	86,66	1.086,97
	Médio	4	13,34	
	Alto	0	0	
<b>Total</b>		30	100	
<b>Doses iniciais</b>	Baixo	36	49,32	23.301,40
	Médio	26	35,62	
	Alto	11	15,06	
<b>Total</b>		73	100	
<b>Doses de reforço</b>	Baixo	9	9,57	67.753,52
	Médio	45	47,87	
	Alto	40	42,55	
<b>Total</b>		146	100	
<b>Vacinados</b>	Baixo	45	26,94	63.185,56
	Médio	71	42,52	
	Alto	51	30,54	
<b>Total</b>		167	100	
<b>Bivalente</b>	Baixo	3	5,76	102.535,21
	Médio	25	48,08	
	Alto	24	46,16	
<b>Total</b>		52	100	

O grupo “Não imunizados” apresentou diferença significativa ( $p < 0,001$ ) nas titulações de anticorpos com todos os grupos avaliados - “Doses iniciais” ( $n = 15$  pares); “Vacinados” ( $n = 25$  pares) e “Bivalente” ( $n = 11$  pares). O grupo “Doses iniciais” também apresentou diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) com os grupos “Doses de reforço” ( $n = 48$  pares) e “Bivalente” ( $n = 25$  pares). Já o grupo “Bivalente” não apresentou

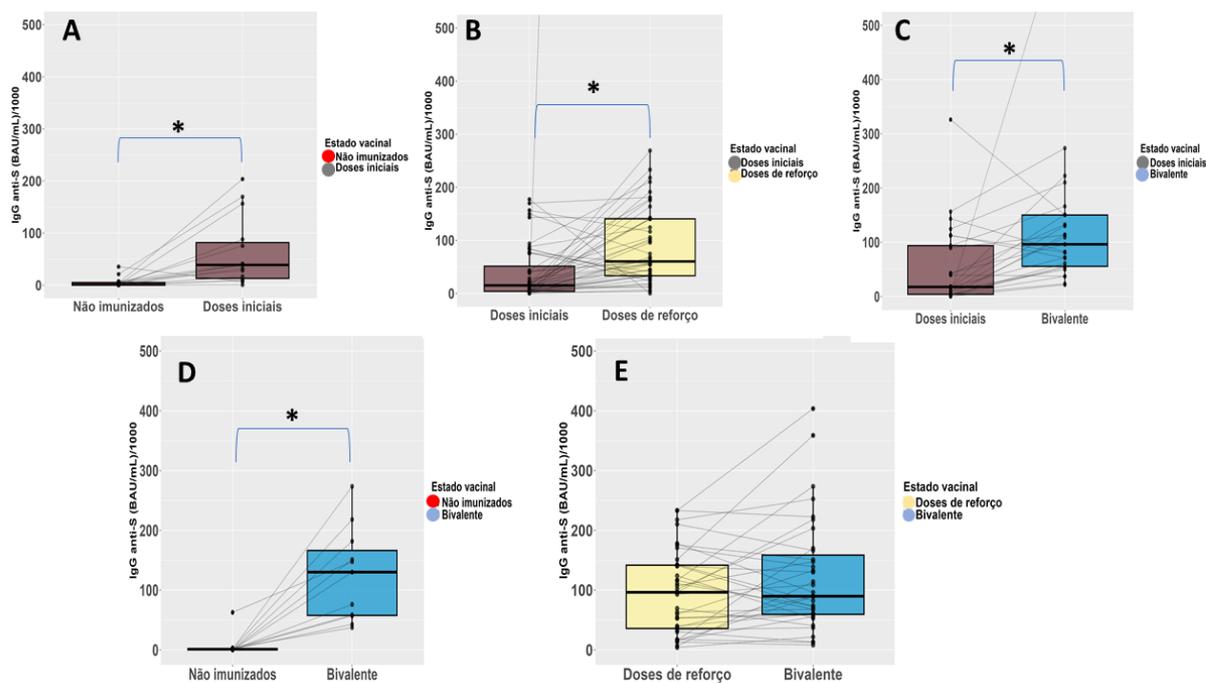
diferenças estatísticas entre os grupos “Doses de reforço” (n = 35 pares) e “Vacinados” (n = 48 pares) (Figura 12 e 13).

Figura 12 – Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal, com grupos generalizados, que se relacionam em (A) “Não imunizados” e “Vacinados” e (B) “Vacinados” e “Bivalente”. Foi realizado o teste não paramétrico pareado de Wilcoxon com correção de Bonferroni para cada análise pareada.



A divisão do grupo generalizado de “Vacinados” em “Doses iniciais” e “Doses de reforço” foi importante para uma visualização mais específica das relações entre o estado vacinal e a proteção humoral dos participantes do estudo, como se constata na Figura 13. Os grupos “Doses iniciais” e “Doses de reforço” apresentaram diferença estatística entre si ( $p < 0,005$ ), enquanto o grupo “Doses de reforço” e “Bivalente”, não. Diversos fatores, incluindo a plataforma de vacinação e os antígenos utilizados, podem influenciar nos níveis de anticorpos e sua persistência em diferentes organismos. Então, mesmo que inexistia a diferença estatística, a aplicação da dose “Bivalente” continua sendo relevante pela sua especificidade contra a VOC Ômicron, o que intensifica a proteção e evita o “*imprinting* imunológico”.

Figura 13 – Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG anti-S em relação ao estado vacinal dos participantes nos grupos (A) “Não imunizados” e “Doses iniciais”, (B) “Doses iniciais” e “Doses de reforço”, (C) “Doses iniciais” e “Bivalente”, (D) “Não imunizados” e “Bivalente” e (E) “Doses de reforço” e “Bivalente”. Foi realizado o teste não paramétrico pareado de Wilcoxon com correção de Bonferroni para cada análise pareada.

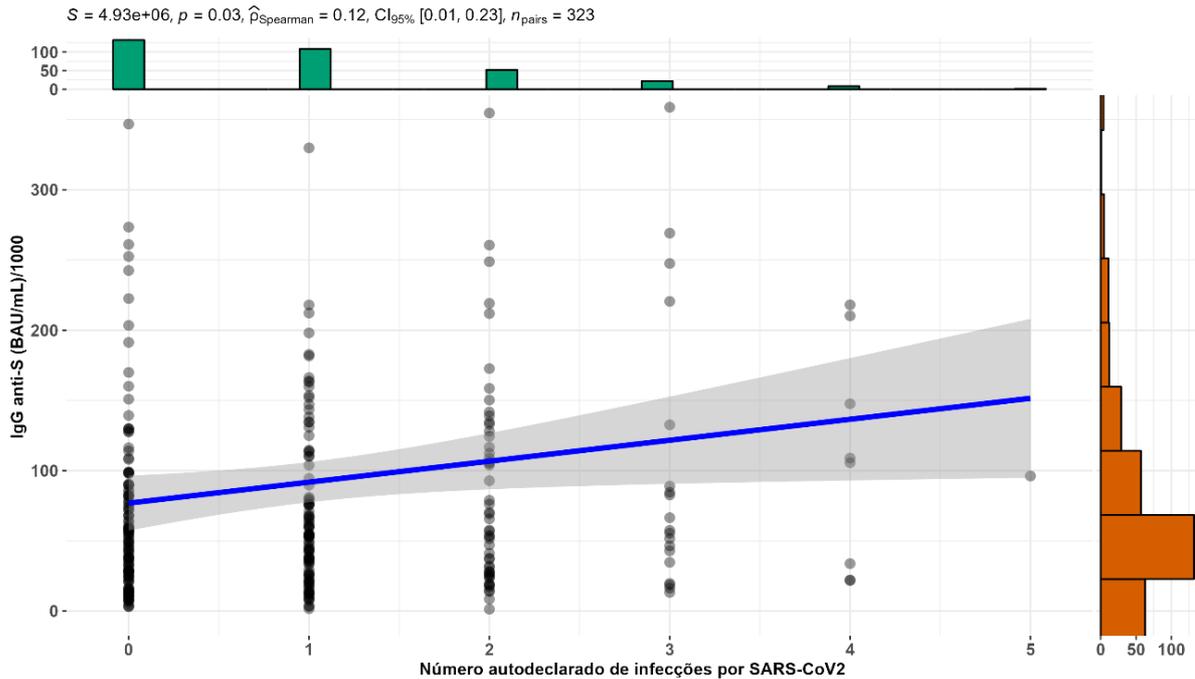


### 5.3 A relação de fatores autodeclarados com a resposta humoral específica contra o SC2

#### 5.3.1 Número de casos de infecção

Todos os participantes do estudo ( $n = 323$ ) foram analisados. Do total, 40,86% dos doadores ( $n = 132$ ) declararam não ter tido qualquer confirmação de infecção por COVID-19. A frequência foi reduzindo à medida que se aumentava a quantidade de infecções, chegando ao  $n = 1$  para pessoas que tiveram 5 infecções por COVID-19. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Anderson-Darling, que resultou em sua não normalidade. Os resultados destacaram uma correlação estatisticamente significativa ( $p = 0,03$ ), positiva e fraca ( $r = 0,12$ ), indicando que à medida que o número de casos autodeclarados aumenta, também aumentam as titulações de anticorpos IgG anti-S (Figura 14).

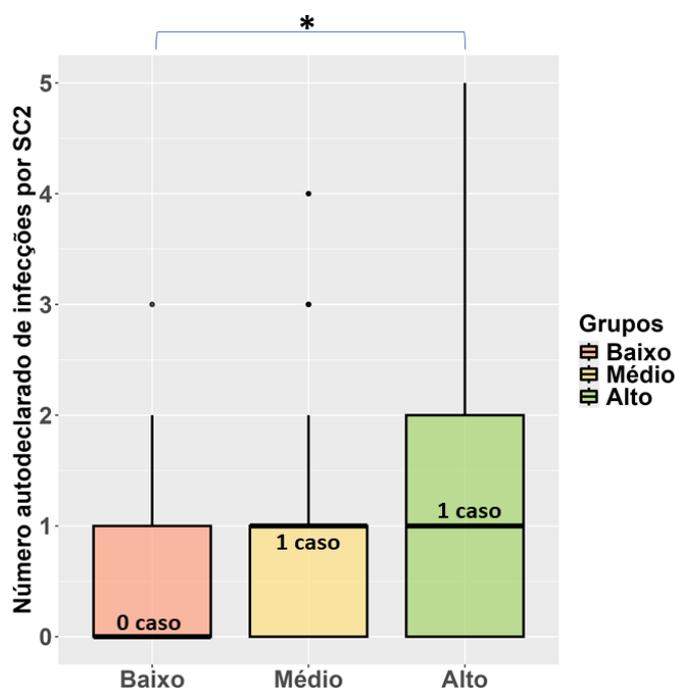
Figura 14 – Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de casos de infecção autodeclarada



A avaliação ainda buscou acompanhar o impacto que o número de infecções autodeclaradas apresentou nos grupos estratificados por níveis de IgG anti-S. Para o grupo “Baixo”, observou-se que à medida que o número de casos autodeclarados aumentava, menor se tornava seu percentual, que atingiu o máximo para aqueles que declararam não ter tido COVID-19 (51,29%), reduzindo consideravelmente para aqueles que declararam ter tido 3 vezes (2,56%) e zerando a partir de 4 infecções. O grupo “Médio” e o grupo “Alto” tiveram uma lógica semelhante, porém com seus percentuais se distribuindo mais entre aqueles que autodeclararam 2 infecções ou mais. O grupo “Alto” foi o único que apresentou doadores com 5 infecções (1,04%).

O grupo “Baixo” foi o mais suscetível quando comparado com o “Alto”, pois foi a única relação que apresentou diferenças significativas ( $p = 0,01$ ) na análise do impacto do número de casos de infecções autodeclaradas. O grupo “Baixo” também foi o único que apresentou mediana em 0 caso (Figura 15). Esse resultado ressalta que indivíduos com poucos ou nenhum registro de infecções confirmadas estão mais suscetíveis a novas infecções ou reinfecções pelo SC2 devido aos menores títulos de anticorpos IgG, em comparação com aqueles que enfrentaram múltiplas infecções e são predominantemente representados nos grupos de “Médio” e “Alto” nível de soroconversão (Sullivan *et al.*, 2023).

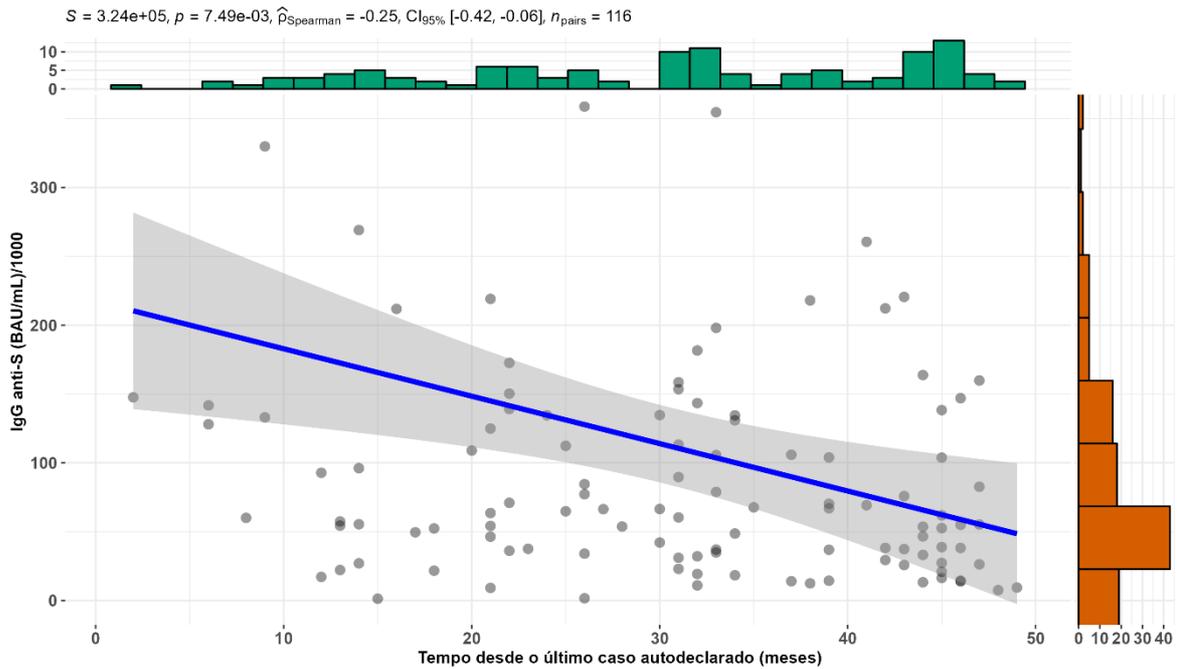
Figura 15 – Avaliação do impacto do número de casos autodeclarados de infecção por COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S. Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Mann-Whitney e correção de Bonferroni.



### 5.3.2 Tempo desde a última exposição

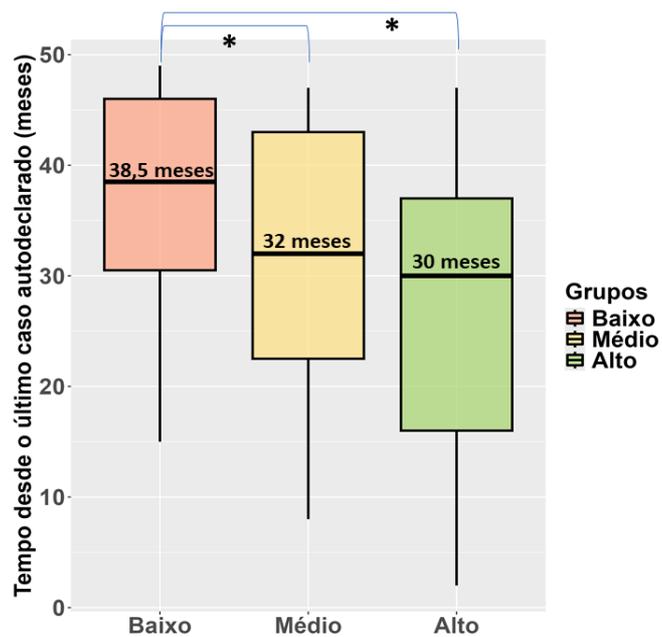
A análise foi restrita aos participantes que relataram ter tido COVID-19 e sabiam a informação sobre o mês e o ano desde a última infecção ( $n = 191/59,13\%$  do total). Com base nessas informações, foi calculado o intervalo entre o mês indicado e o mês da coleta da amostra, permitindo uma estimativa do tempo decorrido. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Anderson-Darling, que constatou a sua não normalidade. Os resultados demonstraram correlação significativa ( $p < 0,001$ ), negativa e fraca ( $r = -0,25$ ), indicando que quanto maior o tempo decorrido, menor a titulação de anticorpos anti-S (Figura 16).

Figura 16 - Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o tempo em meses desde a última infecção autodeclarada



Em relação ao impacto nos grupos, os resultados demonstraram que o grupo “Baixo” foi o mais suscetível. Ele apresentou diferenças estatísticas tanto com o grupo “Médio”, quanto com o grupo “Alto”, diferença não constatada quando se comparou os grupos “Médio” com o “Alto”, o que indica que o tempo desde a última infecção não impactou significativamente esses grupos entre si (Figura 17).

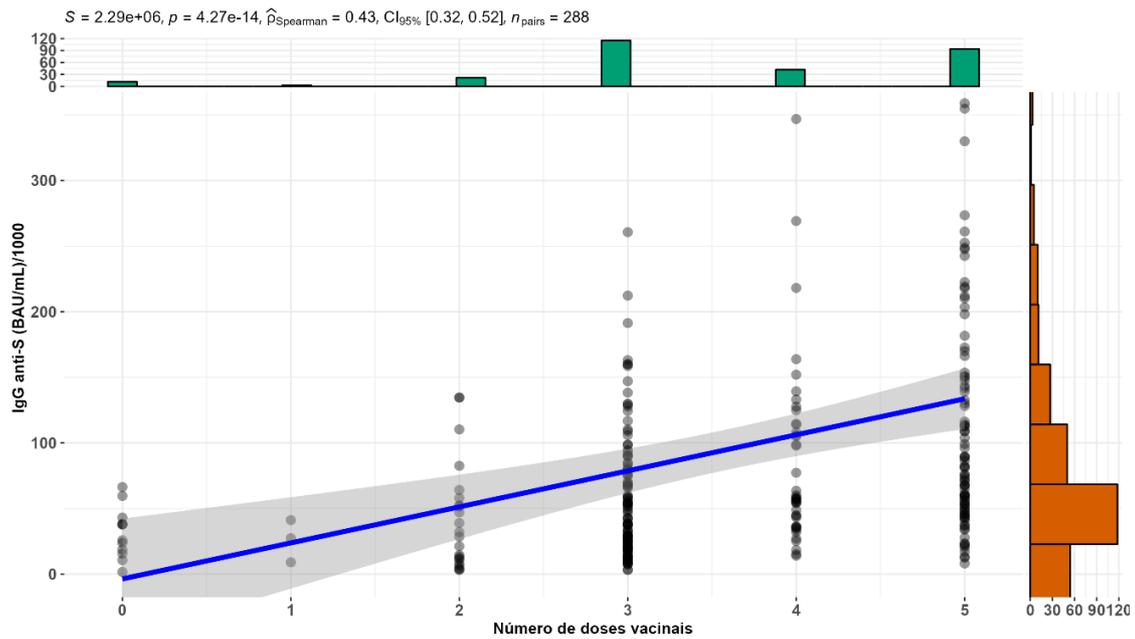
Figura 17 - Avaliação do impacto do tempo desde a última infecção por COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S. Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Mann-Whitney e correção de Bonferroni.



### 5.3.3 Número de doses das vacinas contra o SC2

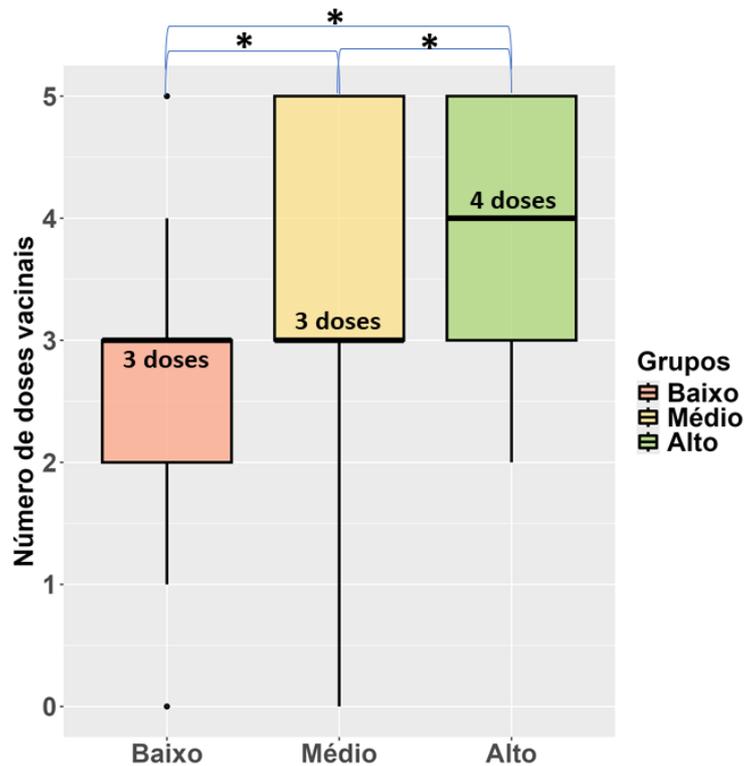
A análise transversal entre o número de doses e a titulação de anticorpos IgG anti-S contou com a análise das amostras de 288 doadores (89,16% do total). A frequência do número de doses aplicadas foi submetida ao teste de normalidade de Anderson-Darling, que constatou a não normalidade dos dados. Uma correlação significativa ( $p < 0,001$ ), positiva e moderada ( $r = 0,43$ ) foi observada, indicando que à medida que se aumenta a quantidade de doses aplicadas, maior é a titulação de anticorpos IgG anti-S (Figura 18).

Figura 18 - Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de doses vacinais contra a COVID-19 aplicadas



O impacto da vacinação ainda foi avaliado de modo mais aprofundado nos grupos. A frequência amostral do grupo “Baixo” foi maior entre a 2ª e a 3ª dose aplicadas, reduzindo consideravelmente a partir da 4ª. O grupo “Médio” apresentou os maiores percentuais entre a 3ª e a Bivalente, enquanto o grupo “Alto” teve o maior percentual entre aqueles que tomaram a Bivalente e não apresentou representantes para doses abaixo da 2ª. Foi constatado diferença estatística entre todos os grupos, confirmando o impacto significativo da vacinação nas frequências amostrais entre os grupos (Figura 19).

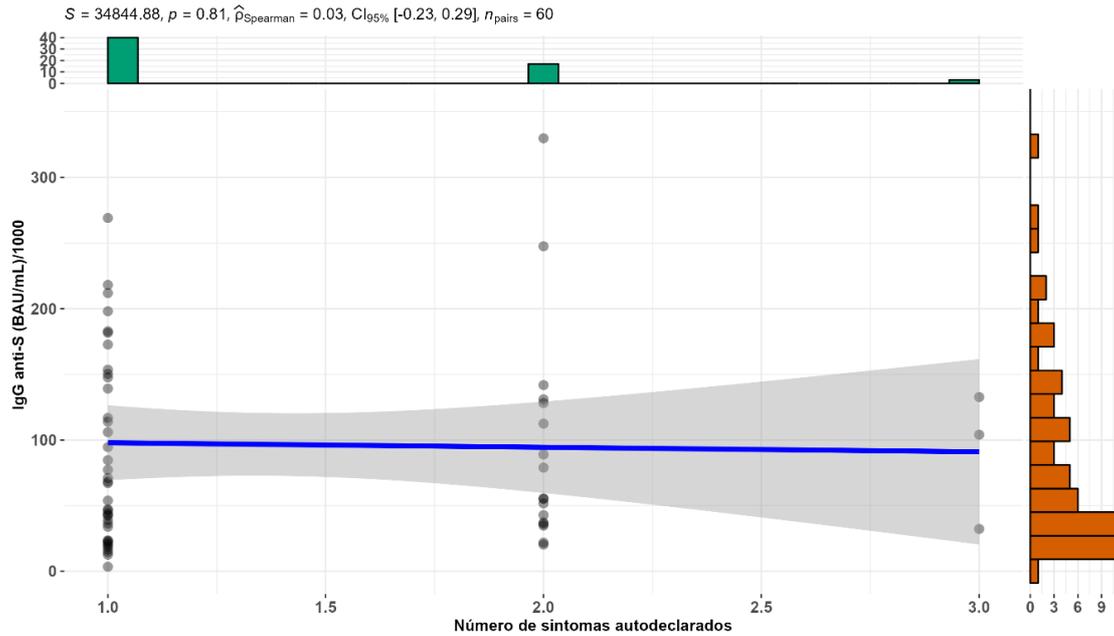
Figura 19 - Avaliação do impacto do número de doses da vacinação nos grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S. . Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Mann-Whitney e correção de Bonferroni.



#### 5.3.4 Sintomas e consequências pós-COVID-19

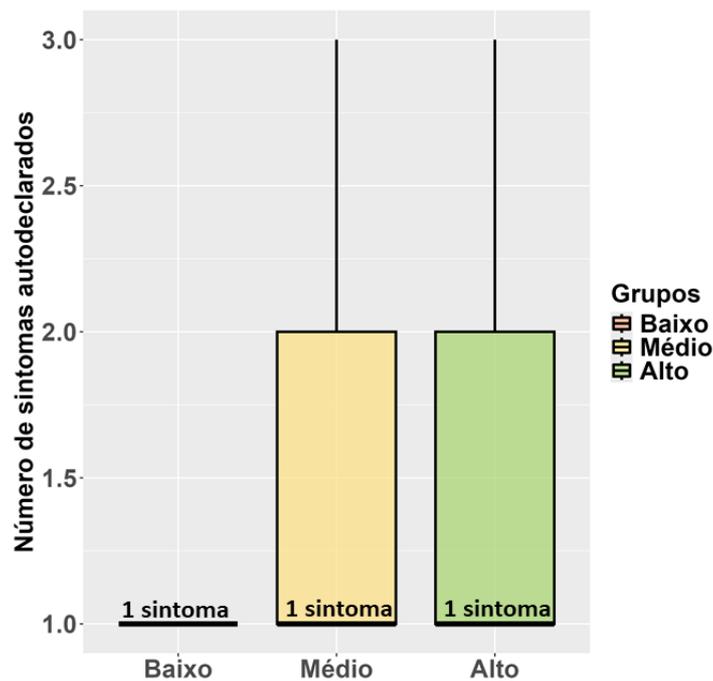
Este tópico tem o propósito de avaliar a quantidade de sintomas pós-COVID-19 principais e a frequência deles em cada grupo. Dentre todos os doadores, 263 (81,43%) relataram não ter tido sintomas persistentes ou consequências pós-COVID-19, enquanto 60 (18,57%) declararam ter tido. Estas, tornaram-se o foco da análise. O número de consequências totais foi submetido ao teste de normalidade de Anderson-Darling, que constatou a não normalidade dos dados. O teste estatístico também determinou a inexistência de correlação entre os dados (Figura 20), o que indica que a quantidade de sintomas relatados não está associada aos níveis de anticorpos IgG anti-S na subpopulação analisada neste modelo.

Figura 20 - Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e o número de consequências persistentes pós-COVID-19



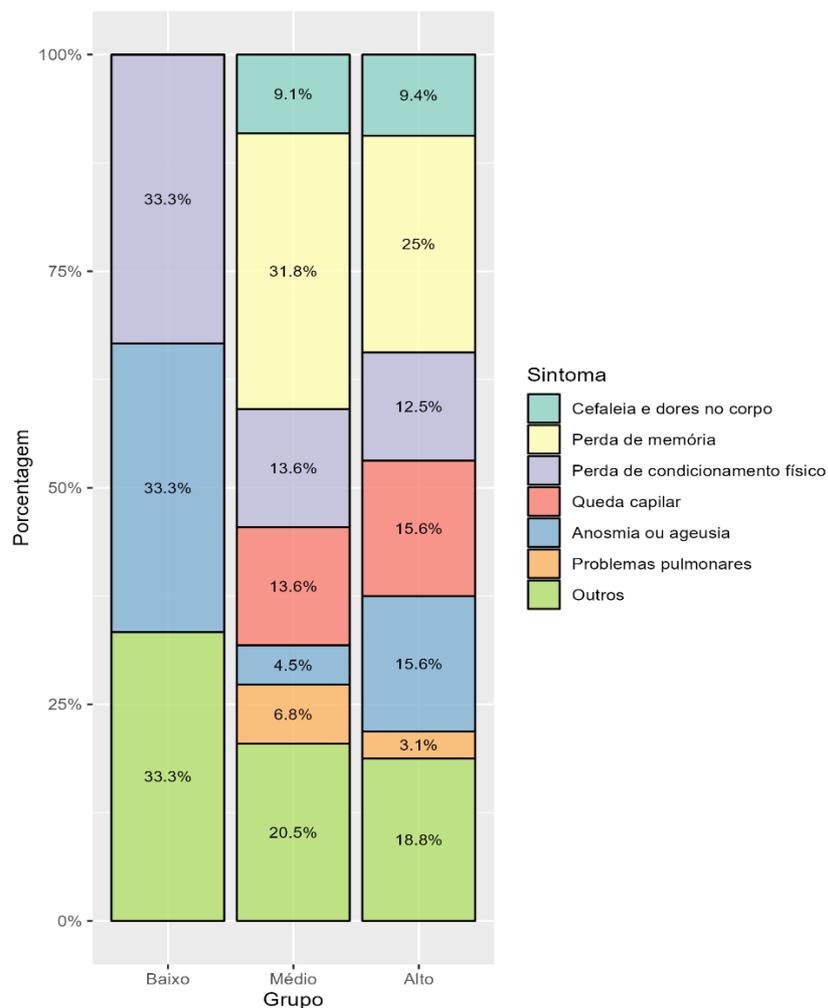
O impacto do número de sintomas foi avaliado entre os grupos. Todos aqueles do grupo “Baixo” tiveram apenas 1 sintoma, enquanto os grupos “Médio” e “Alto” tiveram percentuais variados entre as quantidades de sintomas. Foi constatado a inexistência de diferença estatística entre os grupos, indicando que a quantidade de sintomas persistentes não impacta, de forma mais específica, os grupos entre si (Figura 21).

Figura 21 - Avaliação do impacto da quantidade de sintomas persistentes da COVID-19 com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S. Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Mann-Whitney e correção de Bonferroni.



A frequência dos sintomas persistentes em cada grupo também foi avaliada, constatando-se uma maior porcentagem de “perda de memória” para os grupos “Médio” (31,8%) e “Alto” (25%), seguido de “queda capilar” e “perda de condicionamento físico” para o grupo “Médio” (13,6% cada) e “queda capilar” e “anosmia ou ageusia” para o grupo “Alto” (15,6% cada). No grupo “Baixo” houve a persistência dos sintomas de “anosmia ou ageusia” e “perda de condicionamento físico” (33,33% cada). A categoria “Outros” agrega sintomas de menor ocorrência (até n = 2 relatos) entre os recrutados e considerou sinusite, perda de apetite, ansiedade e problemas oculares (Figura 22). Esse resultado pode refletir a situação específica da subpopulação de doadores de sangue estudada ou, extrapolando, à população de Fortaleza, dada a escassez de estudos que apresentem dados específicos para as populações do Ceará.

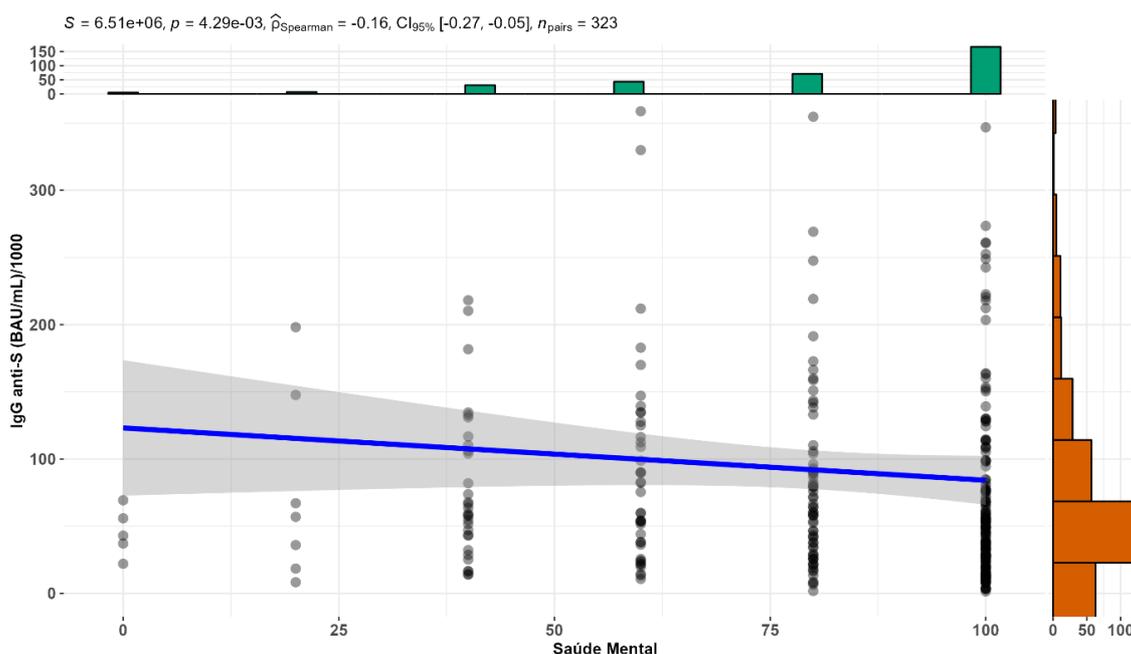
Figura 22 – Frequência dos principais sintomas persistentes da COVID-19 relatados pelos doadores de sangue recrutados e divididos entre os grupos estratificados por títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2



### 5.3.5 Impactos na saúde física e mental

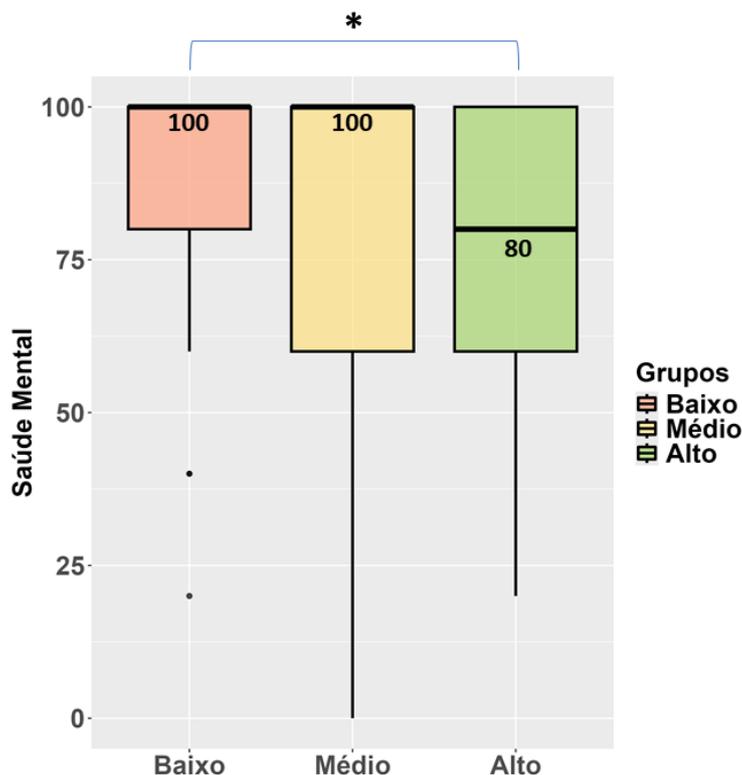
O intuito deste tópico foi o de relacionar os valores dos *scores* de cada categoria do questionário de qualidade de vida com os desfechos dos títulos de anticorpos IgG anti-SC2 a fim de realizar inferências pertinentes. As análises contaram com todos os doadores recrutados ( $n = 323$ ). Os resultados foram divididos por categorias: 1 – capacidade funcional, 2 – saúde mental, 3 – vitalidade. Para todas elas, foi realizado o teste de normalidade de Anderson-Darling, que constatou a não normalidade dos dados e o seguimento com o teste de correlação de Spearman. Apenas a categoria “saúde mental” teve correlação estatística ( $p < 0,001$ ), negativa e fraca ( $r = -0,14$ ) (Figura 23), o que indica que quanto maior a titulação de anticorpos IgG anti-S contra o SC2, menores foram os índices aferidos para o *score* de saúde mental autodeclarados. As categorias “capacidade funcional” e “vitalidade” não apresentaram correlação com os níveis de anticorpos.

Figura 23 - Correlação de Spearman para avaliar as titulações de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 e a saúde mental dos doadores recrutados.



Com a avaliação do impacto das categorias de saúde física e mental dos doadores em relação aos grupos, foi observado uma diferença estatística entre os grupos “Baixo” e “Alto” ( $p < 0,01$ ) para a categoria “saúde mental”. Não se observou diferença entre nenhum dos outros grupos. As categorias “capacidade funcional” e “vitalidade” não impactaram significativamente nenhum dos grupos nesta análise (Figura 24).

Figura 24 - Avaliação do impacto do índice de saúde mental nos grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S. Foi realizado o teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Mann-Whitney e correção de Bonferroni.



### 5.3.6 Impacto multivariado nos grupos estratificados por titulação de IgG anti-S

Todas as variáveis com significância estatística foram submetidas a uma análise multivariada para o estabelecimento de um modelo preditivo de caracterização dos grupos humorais. Elas foram: número de infecções, tempo desde a última infecção, doses de vacinação e saúde mental. As variáveis foram analisadas por regressão logística multinomial. A análise contou com apenas 104 doadores, devido à falta de informações em comum para todas as variáveis. As amostras do grupo “Baixo” foram usadas como referência para as análises com os grupos “Médio” e “Alto” por ter apresentado as maiores diferenças estatísticas entre grupos nas análises univariadas. O resultado do pseudo  $R^2$  foi de 0,1307, com uma acurácia de 0,47. As avaliações não foram extrapoladas. A regressão logística apontou uma única diferença significativa ( $p = 0,006$ ) entre os grupos “Baixo” e “Alto” em relação ao número de doses da vacinação (Tabela 11).

Tabela 11 – Regressão logística multivariada das variáveis que apresentaram diferenças estatísticas na análise univariada com os grupos estratificados por titulação de anticorpos IgG anti-S

Variáveis	Baixo x Médio	Baixo x Alto	Parâmetros	
	p-valor	p-valor	Pseudo R <sup>2</sup>	Acurácia
Número de casos	p = 0,52	p = 0,22		
Tempo desde a última infecção	p = 0,21	p = 0,25	0,131	47%
Doses de vacinação	p = 0,27	p = 0,006*		
Saúde mental	p = 0,92	p = 0,94		

#### 5.4 Análise de PRNT<sub>90</sub> para as linhagens GK.1 e JN.1 e a associação com fatores imune-humorais dos recrutados

Para a avaliação dos dados de neutralização, foram consideradas amostras de 28 doadores, que passaram pelo teste de neutralização para GK.1 e para JN.1. Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Komogorov-Smirnov, que constatou sua não normalidade tanto para a GK.1, quanto para a JN.1. Os dados foram divididos entre amostras coletadas antes e depois da entrada da VOI JN.1 no Ceará. Para os testes de neutralização da GK.1, observou-se que 5 amostras foram neutralizadas antes da entrada da JN.1 e 7, depois. Já para os testes voltados à neutralização da JN.1, 5 amostras foram neutralizadas antes da sua entrada e 8, depois. Tais resultados foram submetidos ao teste de Qui-Quadrado, que constatou a inexistência de diferenças estatísticas para GK.1 e para JN.1, entre os diferentes períodos de coleta, o que viabilizou e justificou a análise de forma conjunta, sem a estratificação em dois períodos.

##### 5.4.1 Análise de correlação com fatores imunológicos dos doadores

Os dados foram submetidos à elaboração de curvas de correlação de Spearman para os resultados de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 (n = 28 para GK.1 e n = 28 para JN.1); anticorpos IgG anti-N contra o SC2 (n = 21 para GK.1 e n = 21 para JN.1); número de células de leucócitos e linfócitos (n = 28 para GK.1 e n = 28 para JN.1) e anticorpos IgA, IgE, IgM e IgG totais (n = 28 para GK.1 e n = 28 para JN.1) (Tabela 12).

Tabela 12 – Análises de correlação de Spearman entre os valores de PRNT  $\geq 90$  para GK.1 e JN.1 e os fatores de associação com a resposta imune-humoral dos doadores de sangue recrutados

Associações	GK.1		JN.1	
	p-valor	rho	p-valor	rho

<b>Anticorpos IgG anti-S</b>	p<0,001***	0,772	p<0,001***	0,760
<b>Anticorpos IgG anti-N</b>	p = 0,004**	0,600	p = 0,001**	0,652
<b>Leucócitos</b>	p = 0,007**	0,495	p = 0,007**	0,500
<b>Linfócitos</b>	p = 0,026*	0,420	p = 0,022*	0,432
<b>Anticorpos totais (IgA, IgE, IgM e IgG)</b>	p>0,05	-	p>0,05	-

Os títulos dos anticorpos totais não apresentaram correlação significativa com as neutralizações das sublinhagens GK.1 e JN.1 (Tabela 12). Os dados apontam que os resultados de anticorpos IgG anti-S e anti-N apresentam fortes parâmetros de associação com os testes de neutralização. As associações com o número de células de leucócitos e linfócitos apresentaram significância estatística com moderada correlação para neutralização da GK.1 e da JN.1.

#### **5.4.2 Construção de linhas de corte para PRNT<sub>90</sub> contra as sublinhagens GK.1 e JN.1**

A partir da correlação, estimaram-se linhas de corte para cada fator avaliado, maximizando a especificidade e a sensibilidade para cada valor escolhido. Para isso, foram elaboradas curvas ROC para cada parâmetro associado ao PRNT<sub>90</sub> contra a GK.1 e a JN.1. Os valores de corte escolhidos serviram como base para uma recategorização dos resultados para cada parâmetro. Os dados recategorizados foram plotados com os originais para a realização do teste de McNemar para fins de confirmação estatística dos valores de sensibilidade, especificidade e dos valores de corte escolhidos. Para todos os testes que apresentaram correlação significativa, o p-valor de McNemar não foi significativo, indicando a ausência de diferença estatística entre a nova categoria e a original (Tabela 13), confirmando os achados.

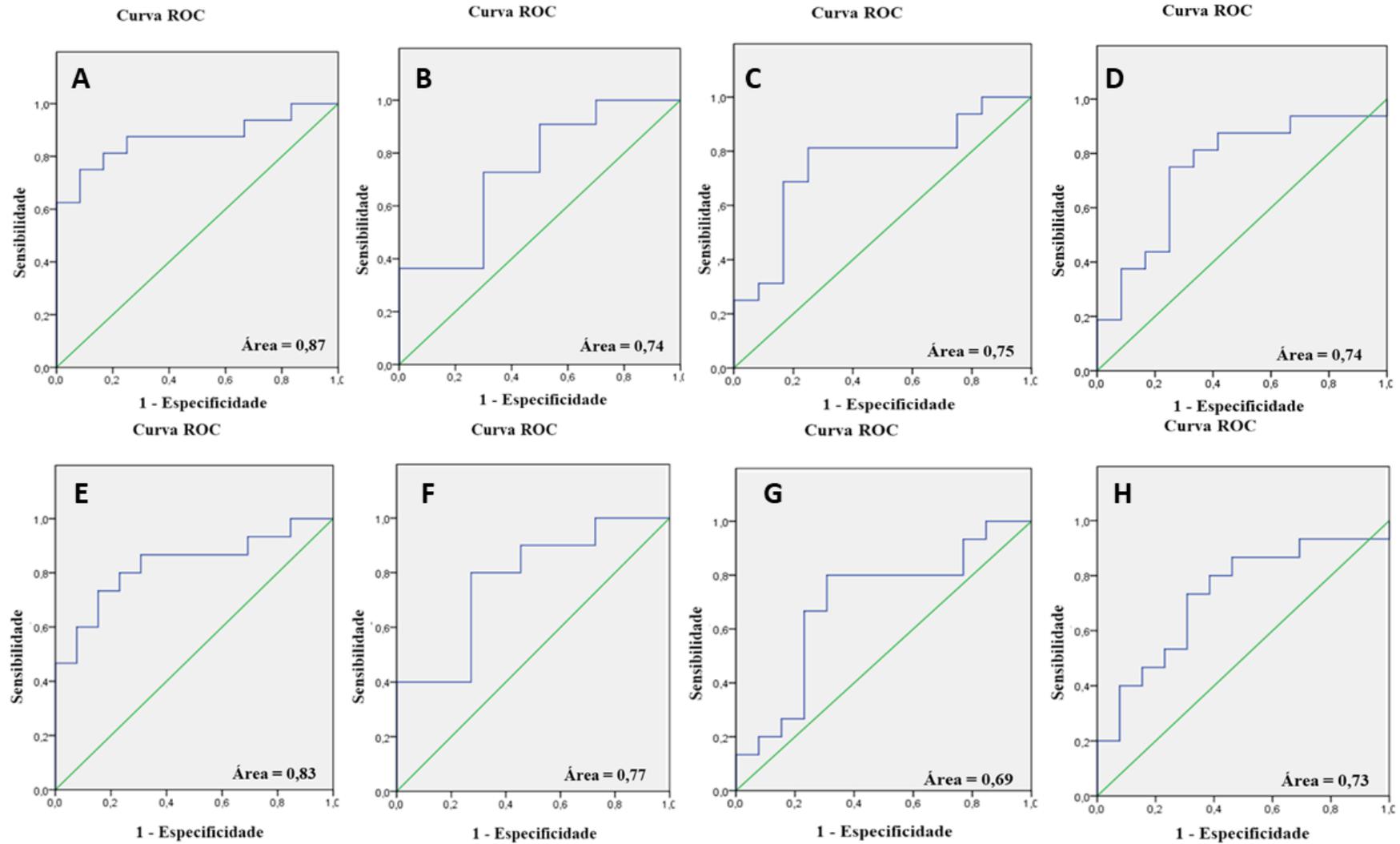
Tabela 13 – Valores de corte e suas respectivas sensibilidades e especificidades para a determinação de um PRNT  $\geq 90$  para cada parâmetro associado à resposta imune-humoral analisado

Associações	GK.1				JN.1			
	Sensibilidade	Especificidade	Valor corte	Área	Sensibilidade	Especificidade	Valor corte	Área
<b>Anticorpos IgG anti-S (BAU/mL)</b>	83,3%	81,2%	50.165,14	0,88	84,6%	86,7%	50.165,14	0,90
<b>Anticorpos IgG anti-N (Index (S/C))</b>	75,0%	76,9%	1,03	0,88	75,0%	76,9%	1,03	0,88
<b>Leucócitos (céls/mm<sup>3</sup>)</b>	66,0%	68,7%	7270,5	0,67	76,9%	73,3%	7083	0,69
<b>Linfócitos (céls/mm<sup>3</sup>)</b>	66,7%	68,7%	2230,5	0,75	76,9%	73,3%	2169,5	0,81
<b>IgA total (mg/dL)</b>	41,7%	43,7%	266,50	0,45	46,2%	46,7%	266,50	0,48
<b>IgE total (UI/mL)</b>	58,3%	56,2%	98,50	0,62	61,5%	60,0%	98,50	0,66
<b>IgM total (mg/dL)</b>	41,7%	43,7%	109,50	0,53	46,2%	46,7%	109,50	0,49
<b>IgG total (mg/dL)</b>	53,8%	53,3%	1197,00	0,50	50%	50%	1197,00	0,52

Um dos principais parâmetros da curva ROC é a área sobre o gráfico. Quanto mais próximo de 1, maior poderá ser a sensibilidade e a especificidade para o ponto de corte escolhido. As maiores áreas observadas neste estudo foram para aquelas variáveis que apresentaram a maior força de correlação com os resultados de neutralização, como os anticorpos IgG anti-S contra o SC2 (0,88 para a GK.1 e 0,90 para a JN.1) (Tabela 13 e Figura 25). Assim, para essas amostras, o valor de corte estabelecido apresentou percentuais de sensibilidade e de especificidade suficientemente altos para assumir que valores iguais ou acima de 50.165,14 BAU/mL para IgG anti-S contra o SC2 são possíveis de se associar com a neutralização de 90% ou mais ( $PRNT \geq 90$ ) das linhagens GK.1 e JN.1.

O mesmo raciocínio é válido para as outras variáveis que tiveram correlação forte ou moderada, como os anticorpos IgG anti-N (0,88 para GK.1 e 0,88 para a JN.1), leucócitos (0,67 para a GK.1 e 0,69 para a JN.1) e linfócitos (0,75 para a GK.1 e 0,81 para a JN.1) (Tabela 13 e Figura 25). As amostras sem correlação significativa (IgA total, IgE total, IgM total e IgG total) tiveram áreas abaixo de 0,67 para todas as curvas ROC construídas, o que refletiu em baixos valores de sensibilidade e especificidade para os pontos de corte escolhidos.

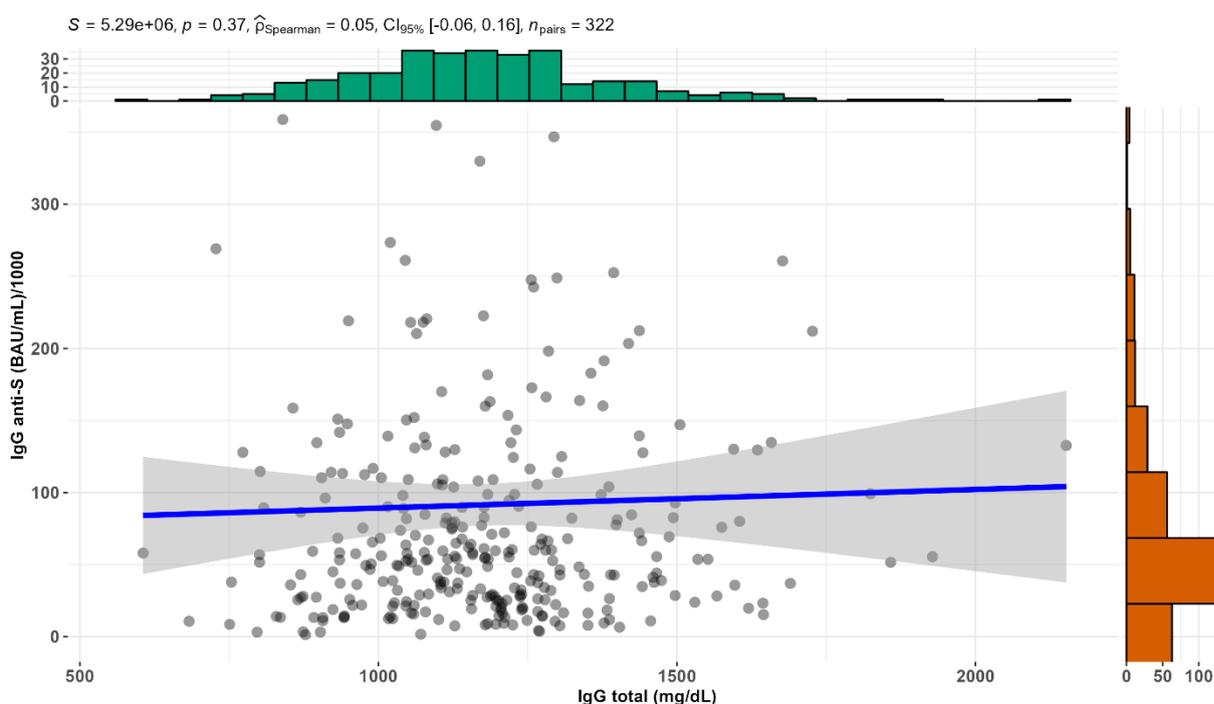
Figura 25 – Curvas ROCs (sensibilidade x 1-especificidade) usadas para a determinação dos pontos de corte ótimos para assumir uma neutralização das linhagens GK.1 e JN.1  $\geq 90\%$  a partir das variáveis IgG anti-S contra o SC2 (A - GK.1 e E - JN.1), IgG anti-N contra o SC2 (B - GK.1 e F - JN.1), contagem de leucócitos (C – GK.1 e G – JN.1) e a contagem de linfócitos (D – GK.1 e H – JN.1).



## 5.5 Relações e impactos entre as titulações de IgG total e IgG anti-S contra SC2

A análise ocorreu com os 323 doadores de sangue recrutados, que se justificou pela necessidade em avaliar a associação entre os anticorpos IgG anti-S e os anticorpos IgG totais com uma amostragem maior, após a ausência de correlação entre as taxas de IgG totais e o PRNT<sub>90</sub> contra a GK.1 e a JN.1. Foi constatado que os resultados seguiram a não normalidade dos dados e não apresentaram correlação estatística (Figura 26).

Figura 26 – Correlação entre os títulos de IgG total e IgG anti-S com a representação quantitativa dos resultados em histogramas



## 6. DISCUSSÃO

A exposição/infecção pelo SC2 resulta em uma ampla variedade de estados biológicos e imunológicos, que podem influenciar significativamente no tipo de desfecho clínico, desde manifestações assintomáticos ou leves até quadros severos e óbitos. Após a introdução do programa de vacinação em larga escala, uma redução no número de casos foi observada, resultando na observação de uma diversidade de perfis de respostas imunológicas da população investigada, o que inclui indivíduos sem registro de imunização contra a COVID-19 que foram infectados, aqueles que receberam todas as doses da vacina até o período estudado e que não possuíam registro de infecção, pessoas que se recuperaram de uma ou múltiplas infecções por SC2 e aqueles que foram vacinados

e possuíam registro(s) de infecção(ões) prévias (imunização híbrida). Essa variedade de cenários é refletida nos resultados desta subpopulação avaliada no presente estudo.

### ***Avaliação pareada das titulações de anticorpos IgG contra o SC2***

Após declaração pela OMS do fim do estado de emergência da pandemia de COVID-19, em maio de 2023 (Wise, 2023), a importância em se continuar as pesquisas relacionadas ao SC2 é essencial para monitorar sua evolução e os impactos contínuos na população, em um cenário de persistência endêmica do vírus. Uma ferramenta fundamental para este processo é a avaliação dos níveis de anticorpos séricos, que fornece *insights* sobre o estado imunológico do indivíduo.

Os anticorpos anti-S, reconhecidos por sua ação na proteína S, responsável pelos principais mecanismos de entrada do vírus nas células humanas, são considerados indicadores valiosos da resposta imunológica, incluindo a eficácia vacinal. Por outro lado, os anticorpos anti-N, atuam na resposta contra as proteínas do nucleocapsídeo, que contribuem para a eficiência da transcrição viral e da montagem das partículas virais nas células hospedeiras. Os anticorpos anti-N e anti-S têm características diferentes, que variam de acordo com o tempo de infecção pelo SC2, o estado vacinal, a gravidade e os sintomas. No geral, os anticorpos IgG anti-S têm se destacado na avaliação da eficácia vacinal nos indivíduos, uma vez que a maioria das vacinas utiliza a proteína S como alvo primário. Por outro lado, os anticorpos anti-N têm sido mais relevantes como biomarcadores da infecção natural (Lee *et al.*, 2022).

Quando se analisa a resposta imune-humoral em 2020, destaca-se o contexto de que toda a população de Fortaleza estava sendo exposta ao vírus pela primeira vez (população considerada *naïve*). A alta taxa de indivíduos considerados “Não Reagente” pode ser explicada ou pelo elevado número de casos assintomáticos, que apresentaram um baixo índice de soroconversão durante o primeiro ano de pandemia (Plebani *et al.*, 2021), ou alternativamente pelo rápido declínio dos títulos de anticorpos IgG contra o SC2, em média 3 meses após o pico de casos em Fortaleza (Flodgren, 2020). Com o declínio da primeira onda em Fortaleza e a redução dos títulos de anticorpos contra o SC2, a população se tornou mais suscetível ao cenário do primeiro semestre de 2021. Neste período, uma grande proporção da população, que já havia sido infectada anteriormente, somada aqueles que não haviam sido expostos ao vírus (imunologicamente *naïve*), foram afetados por uma nova onda de infecções, impulsionada pela emergência e expansão da

VOC Gama, cuja primeira introdução registrada em Fortaleza ocorreu em janeiro de 2021 e que desencadeou uma segunda onda pandêmica na região.

Com a limitação do fornecimento dos *kits*, a coleta de dados para as análises dos anticorpos IgG anti-N foi interrompida em junho de 2021, o que contribuiu para a ausência de diferenças significativas nas titulações de anticorpos IgG anti-N entre 2020 e 2021 (Figura 08). A alta prevalência do grupo “Não Reagente”, durante o primeiro semestre de 2021, pode refletir o estado imunológico dessa subpopulação no início da segunda onda, que resultou em um aumento substancial de casos e óbitos, especialmente entre março e abril (Fortaleza, 2024). Entretanto, o discreto aumento nas taxas de indivíduos considerados “Reagente”, juntamente com o aumento discreto do valor da mediana (Tabela 07) sugere que a influência das novas infecções, reinfecções e do início da vacinação em janeiro de 2021 (Díaz-Dinamarca *et al.*, 2023).

A exposição contínua ao SC2 pela população de Fortaleza, nos períodos subsequentes até a última coleta das amostras, no pós-pandêmico, revelou uma diferença estatisticamente significativa nas amostras pareadas entre os períodos de 2020 e pós-pandemia e de 2021 e pós-pandemia. Este aumento significativo, no subgrupo dos doadores recrutados, pode ser um reflexo da população geral do período pós-pandêmico em Fortaleza, cuja considerável parcela da população já foi vacinada e/ou previamente infectada pelo vírus. A evolução do SC2, cada vez mais adaptado à infecção humana, está diretamente ligada à sazonalidade das novas ondas epidemiológicas de infecção (Liu *et al.*, 2023). Assim, o aumento da taxa de indivíduos que desenvolveram imunidade humoral mais robusta contra o SC2, seja por infecção natural, vacinação ou imunidade híbrida, parece resultar em quadros clínicos de reinfecções mais brandos, corroborando a premissa da maior robustez de sua resposta imunológica (Abela *et al.*, 2024). Esse cenário se reflete na subpopulação dos doadores de sangue, que apresentaram incrementos significativos da frequência de participantes nos grupos “Reagente” e “Alto Reagente” (Figura 08), além de considerável aumento no valor da mediana, que passou a ser classificada como “Reagente” (Tabela 07).

Os dados dos anticorpos IgG anti-S foram analisados em pares a partir do segundo semestre de 2021. Nesse período, a VOC Gama cedia lugar à VOC Delta e o calendário de vacinação avançava, com 15,66% da população do estado do Ceará tendo completado o esquema vacinal de duas doses e 40% tendo recebido a primeira dose até julho de 2021

(SESA, 2021), a imunidade híbrida de uma grande parcela da população, combinada com a imunidade natural pós-VOC Gama e a imunidade vacinal para aqueles não expostos, provavelmente contribuiu para evitar uma nova onda de infecções em Fortaleza pela VOC Delta (Lima, 2022). Com a emergência da VOC Ômicron, em Fortaleza, no final de 2021, houve um aumento abrupto no número de casos (Rede Genômica Fiocruz, 2024). A análise em pares permitiu avaliar a evolução dos níveis de anticorpos IgG anti-S nessa subpopulação de doadores de sangue ao longo do tempo (Figura 09). Os resultados para o ano de 2022 apresentam dados de uma subpopulação com títulos de anticorpos IgG anti-S mais elevados do que em 2021, com a maioria das amostras predominando no grupo “Médio”, uma tendência que se manteve no período pós-pandêmico (Tabela 09 e Figura 10). A análise complementar do *box-plot* pareado (Figura 11), que acompanhou a evolução dos títulos de anticorpos IgG anti-S durante 2021, 2022 e o período pós-pandêmico, corroborou o padrão observado nas comparações em pares (2021 com 2022; 2021 com pós-pandemia e 2022 com pós-pandemia). Esses achados indicam a consistência dos dados e sugerem que o subgrupo dos doadores, em 2022, já apresentava um estado de imunização humoral semelhante ao observado no período pós-pandêmico, o que pode explicar a ausência de diferenças estatísticas entre os dois períodos.

O avanço do calendário de vacinação, incluindo a administração das doses de reforço, juntamente com um aumento na exposição ao vírus, especialmente após a disseminação da VOC Ômicron e suas sublinhagens (BA.1, BA.2, BA.4, BA.5, BQ.1, BE.9, XBB e JN.1) em Fortaleza, aparentemente contribuiu para a manutenção dos níveis de anticorpos IgG anti-S observados a partir de 2022, com um discreto declínio no período pós-pandêmico (Tabela 10). Quando comparados aos Não imunizados, os indivíduos vacinados até a quarta dose (grupo “Vacinados”) mostram um incremento nos títulos de anticorpos IgG anti-S significativo, destacando a importância da vacinação. Além disso, aumentos significativos desses títulos entre os indivíduos “Vacinados” e os que receberam a dose Bivalente ratificam a relevância das doses adicionais (*boosters*) para a manutenção dos títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 (Figura 12).

A análise pareada focada na distinção entre os grupos “Doses iniciais” e “Doses de reforço” foi crucial para avaliar diferenças específicas dentro do grupo “Vacinados”. Como corroborado pela literatura, o título de anticorpos IgG anti-S observado naqueles que tomaram as doses iniciais é consideravelmente maior em comparação com aqueles sem registros de vacinação (Bansal *et al.*, 2023; Thangaraj *et al.*, 2022). Essa diferença é

ainda mais evidente na análise pareada (Figura 13), que revela um aumento da mediana dos títulos de anticorpos, ao longo do tempo, nos mesmos indivíduos, além de uma significativa expansão na distribuição deles pelos grupos “Médio” e “Alto”. A disparidade nos níveis de anticorpos entre os pares daqueles que receberam as doses iniciais e, posteriormente, as doses de reforço e a bivalente permanece significativa, destacando a necessidade das doses adicionais (*boosters*) para além das primeiras a fim de garantir um preparo imunológico mais robusto, refletida em maiores títulos de anticorpos IgG anti-S (Gruell *et al.*, 2022; Pooley *et al.*, 2023).

Por outro lado, ao comparar os grupos que receberam a dose de reforço com aqueles que receberam a bivalente, não foram observadas diferenças significativas entre os dois, o que não implica afirmar que a Bivalente se torna dispensável. Diversos fatores, incluindo a plataforma de vacinação e os antígenos utilizados, podem influenciar nos níveis de anticorpos e sua persistência em diferentes organismos. Um estudo realizado por Hoffman e colaboradores (2022) revelou que, um mês após a vacinação com a BNT62b2 (Pfizer/BioNTech), a capacidade de inibir a entrada da proteína S da Ômicron foi 34 vezes menor do que a capacidade de inibir a entrada da variante B.1, e 12 vezes menor do que a capacidade de inibir a entrada da VOC Delta. Isso se deve ao fato de que as vacinas desenvolvidas com base na cepa selvagem original tendem a gerar anticorpos com reconhecimento limitado das VOCs, especialmente da Ômicron e suas sublinhagens, que apresentam múltiplas mutações na proteína S. Portanto, além da importância de manter níveis consistentes dos anticorpos IgG anti-S, por meio da aplicação de doses de reforço, a administração da Bivalente (Pfizer/BioNTech) proporciona uma proteção mais específica, evitando o chamado *imprinting* imunológico. De acordo com a literatura, a administração da dose adicional resulta no desenvolvimento de anticorpos IgG com maior capacidade de neutralização contra a VOC Ômicron, especialmente a sublinhagem BA.1, em comparação com vacinas desenvolvidas a partir da cepa selvagem (Springer *et al.*, 2023). Uma limitação deste estudo foi a impossibilidade de realizar uma análise de todas as doses de modo pareado entre os indivíduos devido à escassez de dados disponíveis. Apesar disso, a avaliação realizada foi suficientemente robusta para destacar a importância das diferentes classes de doses aplicadas nos doadores recrutados.

***Associação das informações autodeclaradas com a titulação de anticorpos IgG anti-S contra o SC2***

Segundo os resultados relativos ao número de casos de infecção reportados, a maioria dos doadores (n = 132) alegou nunca ter realizado um teste confirmatório de COVID-19, declarando, também, nunca ter apresentado sintomas da doença. Algumas hipóteses podem ser consideradas para explicar esse resultado. Ao levar em conta que todas as informações fornecidas pelos doadores são verdadeiras, uma das possibilidades é que, mesmo após a pandemia, ainda existem pessoas que nunca contraíram o vírus, sendo consideradas *naïve* para a infecção. O último boletim epidemiológico, datado de 15 de maio de 2024, da Secretaria Municipal de Saúde de Fortaleza (SMS), registrou um total de 391.984 casos confirmados (SMS, 2024). Considerando a população de Fortaleza de 2.428.708 pessoas (IBGE, 2022), além da notificação de casos de reinfeção, é plausível que ainda haja indivíduos não infectados. Outra hipótese a ser considerada é a subnotificação dos casos. Segundo a SMS de Fortaleza, os primeiros meses da pandemia, especialmente entre abril e maio de 2020, foram marcados por uma alta subnotificação dos casos de COVID-19. A ampliação dos testes laboratoriais e o aumento na disponibilidade de testes rápidos em unidades de saúde e farmácias contribuíram para uma melhora na detecção de casos a partir de 2021 (SMS, 2021). Assim, mesmo que cada caso confirmado represente apenas um habitante de Fortaleza, cerca de 83,86% da população não teve o vírus ou não teve seu caso notificado. Portanto, é plenamente possível que, dentro do subgrupo de doadores recrutados, cerca de 40,87% não tenham contraído o vírus ou não tenham tido o caso notificado.

Na análise da relação do número de casos, observa-se uma correlação, embora fraca, entre o número de casos de infecção autodeclarada e os títulos de anticorpos IgG anti-S contra o SC2 em conformidade com os achados da literatura em estudos com grupos que tiveram infecção comprovada (Figura 14). Notavelmente, aqueles que não tiveram confirmação de COVID-19 ou declararam que tiveram apenas uma vez, encontram-se predominantemente agrupados no segmento de baixa soroconversão (Baixo), enquanto os que relataram três ou mais vezes são mais prevalentes no grupo de alta soroconversão (Alto), fato que também corrobora com a literatura, evidenciando que múltiplas infecções estimulam o sistema imunológico humoral de forma mais robusta (Sullivan *et al.*, 2023). Essa tendência também se reflete na discrepância significativa entre os grupos “Alto” e “Baixo” em relação ao número de casos (Figura 15).

Em relação ao tempo decorrido desde a última infecção, a correlação identificada, mais forte do que a observada com o número de casos (Figura 16), sugere que à medida

que o tempo transcorre, desde o último caso, os títulos de anticorpos IgG anti-S tendem a diminuir, aumentando as chances de o indivíduo ser classificado no grupo de nível “Baixo” de soroconversão. Além disso, os resultados indicam que o tempo exerce um impacto significativo neste grupo em comparação com os grupos “Médio” e “Alto”, destacando que a quantidade de meses (com mediana em 38,5) pode ser determinante para a transição do indivíduo para o grupo “Médio” (com mediana de 32) ou para o grupo “Alto” (com mediana de 30) (Figura 17).

Alguns estudos indicam que as altas prevalências de anticorpos IgG permanecem sustentáveis até aproximadamente 6 a 8 meses após a recuperação da infecção, exercendo efeitos que podem mitigar a progressão da doença para formas mais graves (Chivese *et al.*, 2022). A diferença de 6 meses na mediana do tempo entre os grupos “Baixo” e “Médio”, e de 8,5 meses entre os grupos “Baixo” e “Alto”, sugere a importância desse intervalo temporal nos títulos de anticorpos IgG anti-S. O fato do tempo em si ser muito alto (todos com mediana acima de 30 meses) indica que alguns fatores podem estar influenciando diretamente nesse resultado, como a vacinação e o impacto de infecções assintomáticas ou com sintomatologias mais leves, não percebidas pelo doador. O contato repetido com antígenos virais, seja por meio da vacinação ou de ciclos de infecção e reinfeção, também contribui para o desenvolvimento da imunidade celular, que, por sua vez, pode influenciar nos títulos de anticorpos IgG. Estudos indicam que a alta prevalência de células B e células T de memória, especialmente as T CD4+ *helper*, pode estar associada a uma proteção mais duradoura (Dan *et al.*, 2021; Yan *et al.*, 2021). Portanto, a análise da influência da resposta celular ao longo do tempo se mostra essencial. No entanto, observou-se que em um determinado momento do tempo, desde a última infecção, ele passou a exercer uma influência negativa nos níveis de anticorpos IgG anti-S, colocando os indivíduos com muito mais tempo em maior proximidade com o grupo mais suscetível (Baixo).

A análise da subpopulação de doadores de sangue visou examinar o impacto da vacinação, agora de forma transversal, sobre as titulações de anticorpos IgG anti-S. Os resultados sugerem que a vacinação é a variável com maior influência nas taxas de anticorpos IgG anti-S (Figura 18). Notavelmente, o grupo “Baixo” apresentou os menores índices de vacinação, fato que contribui para este ser o grupo mais suscetível a infecções pelo SC2 (Figura 19). Isso ressalta a urgência de integrar esse grupo às campanhas de vacinação, considerando sua baixa soroconversão e, conseqüentemente, capacidade

imunológica reduzida para responder à infecção natural. Tal cenário pode contribuir para aumentos nos casos de infecção e gravidade, especialmente com a introdução de novas variantes. A diferença significativa entre os grupos “Médio” e “Alto”, com mediana de 3 e 4 doses, respectivamente, evidencia um impacto não observado previamente nas análises pareadas: o efeito significativo das doses de reforço nos títulos de anticorpos IgG anti-S. Como o grupo “Alto” engloba a maioria dos indivíduos que receberam as doses de reforço e a Bivalente, a diferença significativa entre os dois grupos concentra-se principalmente nesses participantes. Manter níveis elevados de IgG é vantajoso, principalmente quando se considera anticorpos responsivos a diferentes linhagens do SC2, pois aumenta a probabilidade de ação neutralizante. Além disso, a administração da Bivalente e o desenvolvimento contínuo de doses mais específicas contra novas linhagens emergentes evitam o *imprinting* imunológico e podem ser cruciais no combate à persistência do vírus.

Apesar dos esforços contínuos da comunidade científica para compreender a complexidade da patofisiologia da COVID-19, uma preocupação crescente na era pós-pandemia tem sido os sintomas persistentes da doença. Desde o início da emergência do SC2, mais de 100 sintomas pós-COVID-19 foram descritos (Fernandez-de-las-Peñas *et al.*, 2024). Neste estudo, 60 doadores recrutados (18,6% do total e 31,42% dos que declararam ter tido COVID-19) relataram sintomas pós-infecção. Uma das avaliações realizadas foi a quantidade de sintomas persistentes. A ausência de correlação nos títulos de anticorpos IgG anti-S (Figura 20) ou impacto estatístico nos grupos em relação ao número de sintomas indica que a quantidade de sintomas relatados (Figura 21) não está associada aos níveis de anticorpos IgG anti-S na subpopulação analisada neste modelo. Pesquisas indicam que as principais causas da persistência dos sintomas são multifatoriais, com destaque para o estresse oxidativo, a função imunológica e a inflamação. Considerando a função imunológica, sabe-se que durante uma infecção ativa, o contato do hospedeiro com o vírus desencadeia respostas citolíticas, envolvendo a imunidade inata do indivíduo, citocinas, liberação de IFN-I e ação das células NK. A ativação subsequente de linfócitos T e B resulta na eliminação do vírus, porém com um grande estresse inflamatório (Pierce *et al.*, 2022). Conforme observado neste estudo, a maioria dos participantes dos grupos “Médio” e “Alto” teve múltiplas infecções por COVID-19, sugerindo uma prevalência maior de determinados sintomas nesses grupos. Entre os sintomas relatados (Figura 22), destaca-se a perda de memória, mais prevalente nos grupos “Médio” e “Alto”,

contradizendo alguns estudos que relatam prevalências mais baixas de 8% (Rahmati *et al.*, 2023) ou até 20% (Fernandez-de-las-Peñas *et al.*, 2024).

A queda capilar emerge como segundo principal sintoma nos grupos em questão, tornando-se o principal sintoma dermatológico pós-COVID-19 relatado, em concordância com a literatura sobre outras populações (Peghin *et al.*, 2023; Kirchberger *et al.*, 2023). Além disso, sintomas, como a anosmia e a ageusia, foram mais prevalentes nos grupos “Alto” e “Baixo”, enquanto a perda de condicionamento físico se destacou nos grupos “Médio” e “Baixo”. Estudos anteriores destacaram a prevalência pós infecção desses sintomas, ligados à patofisiologia da COVID-19, comparando-os a outros sintomas neurológicos e cognitivos, como vertigens e tonturas constantes (Peghin *et al.*, 2023; Van Wambeke *et al.*, 2023). Quanto à perda de condicionamento físico, embora seja amplamente relatada em outros estudos (Rahmati *et al.*, 2023; Ballouz *et al.*, 2023) como sintoma pós-infecção mais prevalente, neste estudo apresentou uma prevalência reduzida em relação aos outros sintomas. Os sintomas menos comuns neste estudo, mas frequentemente relatados na literatura, incluem problemas pulmonares, cefaleia e aqueles agrupados em “outros”, como perda de apetite, sinusite, ansiedade e problemas oculares. A ausência de evolução para casos mais graves de COVID-19, conforme relatado pelos próprios doadores de sangue, pode explicar a menor prevalência de efeitos pulmonares persistentes. Além disso, casos de ansiedade pós-COVID-19 podem ter declinado com o fim do estado emergencial de pandemia e a retomada das atividades normais. No entanto, sua prevalência mínima pode estar relacionada a outros fatores associados à sintomatologia pós-COVID-19, como a perda de condicionamento físico, problemas de cognição ou perda de memória, que são fatores ansiogênicos, que causam desconforto nos indivíduos.

Os resultados da adaptação do SF-6D visaram avaliar a qualidade de vida dos doadores de sangue no período pós-pandemia. Surpreendentemente, os dados sobre a capacidade funcional e a vitalidade não revelaram correlações significativas com os títulos de anticorpos IgG anti-S, sugerindo uma condição favorável nesses aspectos. Considerando que 40,87% dos doadores declararam não terem contraído COVID-19 e apenas 31,42% relataram consequências pós-COVID-19, mesmo que uma parcela considerável destes tenha mencionado perda de condicionamento físico (33,33% no grupo “Baixo”, 13,6% no grupo “Médio e 12,5% no grupo “Alto”), o número não foi significativamente diferente ou desfavorável o suficiente para impactar negativamente as

avaliações. Isso sugere que, de maneira geral, essa subpopulação de doadores de sangue mantém uma boa condição física e disposição, apesar dos desafios impostos pela pandemia.

No entanto, ao abordar a saúde mental, observou-se uma diferença significativa em seu impacto entre os grupos “Baixo” e “Alto”. Embora os índices daqueles que relataram problemas psicológicos tenham sido baixos, a ponto de serem categorizados como “Outros” na análise dos sintomas pós-COVID-19, a primeira hipótese para explorar este ponto é que os efeitos de uma pandemia na psique humana podem extrapolar a necessidade de uma infecção pelo vírus. Distúrbios emocionais, como irritabilidade, insônia, depressão e estresse pós-traumático são comuns após períodos de quarentenas, como os vivenciados na pandemia de COVID-19, e podem ter impactos consideráveis nas pessoas que o experienciaram (Brooks *et al.*, 2020; Kathirvel, 2020). Assim, embora a mediana tenha apresentado uma mudança discreta nos valores e permanecido próxima a 100, a variação significativa entre os grupos (Figura 24) e a correlação negativa com os títulos de anticorpos IgG anti-S (Figura 23) indicam um impacto que pode estar associado tanto aos efeitos diretos da pandemia, quanto ao fato de que maiores taxas de anticorpos IgG anti-S podem ser um indicativo de que a saúde mental de uma população foi afetada pelo vírus. Assim, outra hipótese que pode justificar o resultado é o impacto da infecção pelo SC2 nos níveis de serotonina, e a recorrência das infecções, que podem ter afetado a saúde mental dessas pessoas, mesmo que não tenham sido relatadas previamente na análise dos “sintomas persistentes”, especialmente considerando que o grupo “Alto” foi o que apresentou os maiores índices de reinfecções autodeclaradas. Tanto a serotonina, quanto a norepinefrina são consideradas os neurotransmissores mais intimamente ligados à depressão (Abdel-Bakky *et al.*, 2021). Assim, se a COVID-19 pode desencadear uma tempestade de citocinas, o alto nível de citocinas pró-inflamatórias liberadas pode alterar os níveis de serotonina, destruindo células da micróglia e afetando a neuroplasticidade, o que afeta a função cerebral (Jarczak; Nierhaus, 2022; Fajgenbaum; June, 2020). Apesar do impacto ter sido discreto, o resultado discutido é relevante para a compreensão dos efeitos diretos e indiretos da pandemia na saúde mental desses indivíduos, gerando informações que podem orientar propostas de tratamento e de combate aos problemas de saúde mental relacionados.

A análise multivariada foi realizada com todas as variáveis que apresentaram significância no modelo de dados autodeclarados. No entanto, o baixo índice do pseudo

$R^2$ , que avalia o quanto o modelo proposto consegue explicar os dados, além da baixa acurácia dos resultados indicam que o modelo utilizado não foi ideal para a avaliação multivariada (Tabela 11). Essa constatação levou à decisão de não extrapolar as análises. Uma das razões para esse resultado pode ser atribuída ao número amostral total ( $n = 104$ ) em relação ao número de variáveis avaliadas ( $n = 4$ ) não estar adequado à necessidade amostral para essa análise. Portanto, para a avaliação deste modelo, sugere-se considerar as análises univariadas, juntamente com seus respectivos resultados e significâncias estatísticas.

### **Efeitos da neutralização dos anticorpos IgG contra as linhagens JN.1 e GK.1 do SC2 e associação com fatores da resposta imunológica dos recrutados**

Os níveis de anticorpos neutralizantes têm sido associados diretamente à proteção contra a infecção sintomática pelo SC2, destacando a importância de compreender esses níveis nos indivíduos para melhor implementação de métodos imunológicos de diagnóstico. A determinação dos níveis de anticorpos neutralizantes em um estudo que investiga as titulações séricas de anticorpos IgG contra o SC2 pode ser crucial para validar parâmetros que ajudam a prever a especificidade e a sensibilidade da neutralização de diferentes linhagens do vírus. A linhagem GK.1, uma evolução da XBB.1.5, representou cerca de 45% dos genomas sequenciados no Brasil entre as semanas epidemiológicas 38 e 41 de 2023. Embora não tenha se tornado dominante no Ceará, foram relatados casos esporádicos no segundo semestre de 2023. Quanto à linhagem JN.1, o Ceará foi um dos primeiros estados do Brasil a registrar um aumento significativo de casos a partir de novembro de 2023 (Arantes *et al.*, 2024). A ausência de significância estatística para as amostras coletadas antes da introdução da linhagem no estado e durante o aumento do número de casos sugere que os resultados de neutralização não foram dependentes da introdução da JN.1 no Ceará.

Os dados de neutralização exibiram uma correlação positiva e forte com os níveis de IgG anti-S contra o SC2, indicando que o aumento desses anticorpos está associado a uma maior capacidade de neutralizar tanto a linhagem GK.1 quanto a JN.1. Embora estudos anteriores tenham comparado diferentes testes de IgG anti-S com várias taxas de neutralização, este estudo se destaca ao considerar as linhagens recentemente circulantes no Brasil, refletindo diretamente a evolução contínua do vírus. A análise revelou que não houve diferença significativa entre os períodos antes e durante a

prevalência da JN.1, sugerindo que doadores com uma titulação de anticorpos IgG anti-S igual ou superior a 50.165,14 BAU/mL apresentaram uma capacidade de neutralização de pelo menos 90% para ambas as linhagens, com uma sensibilidade e especificidade superiores a 80% (Tabela 13). Esses resultados solidificam o papel do teste de IgG anti-S como indicador crucial dos níveis de neutralização de anticorpos contra as linhagens virais. Além disso, eles confirmam que aqueles classificados nos grupos “Baixo” e parte do grupo “Médio” não possuem uma capacidade de neutralização adequada para prevenir infecções pelo vírus. Portanto, esse valor de corte relativamente alto para o teste de IgG anti-S sugere, provavelmente, uma menor capacidade da subpopulação avaliada em neutralizar essas linhagens do vírus devido à evasão imunológica e ao escape vacinal, o que revela a necessidade de títulos de anticorpos maiores para se conseguir inferir com precisão a capacidade de neutralização do vírus dentro dessa subpopulação. Essas conclusões têm implicações significativas para estratégias futuras de imunização em Fortaleza, destacando a importância de direcionar esforços para os grupos com baixa soroconversão.

Os índices de anticorpos IgG anti-N representam um parâmetro essencial na avaliação do impacto das infecções recentes pelo SC2. A forte correlação positiva com os níveis de neutralização (Tabela 12) acrescenta outra camada de avaliação, que reforça ainda mais as análises das curvas ROC para determinar cortes diagnósticos. O valor de corte mais sensível e específico para as variantes GK.1 e JN.1 foi estabelecido em 1,03 Index (S/C). Embora seja considerado “Não Reagente” pelo fabricante, uma padronização entre 0,5 e 1,4 Index (S/C), proposta por Júnior (2021), classifica essa faixa como “Possível Positivo”, sugerindo que essa categorização pode oferecer *insights* sobre um estado imunológico que se encontra abaixo do corte de 1,4 Index (S/C), proposto pelo fabricante. Consequentemente, os resultados dos grupos “Reagente” e “Alto Reagente” podem ser considerados como amostras potencialmente neutralizantes, incluindo parte do grupo “Não Reagente”. A avaliação combinada dos testes de IgG anti-N e IgG anti-S, considerando seus pontos de corte e níveis de sensibilidade e especificidade, pode aumentar ainda mais a confiabilidade na previsão da capacidade de neutralização de uma amostra. Essa abordagem pode se mostrar uma estratégia viável para avaliar a eficácia da resposta imune humoral dos indivíduos.

Os leucócitos totais, incluindo monócitos, basófilos e neutrófilos; e os linfócitos totais, incluindo os T e os B, representam parâmetros cruciais na avaliação do estado

imunológico de um indivíduo. Durante a infecção por SC2, tanto os níveis de leucócitos, quanto os de linfócitos tendem a aumentar, enquanto a diminuição desses níveis durante a infecção está diretamente associada à progressão para quadros clínicos mais graves de COVID-19. A manutenção dos níveis basais é fundamental para a homeostase do organismo, assegurando uma resposta imune inata eficaz, por meio de leucócitos, como neutrófilos, monócitos e macrófagos, além de uma resposta celular adaptativa mediada por linfócitos T CD8+ e T CD4+ ou linfócitos B, que desempenham papel na produção de anticorpos específicos, como os IgGs de memória (Chen *et al.*, 2023, Nasrollahi *et al.*, 2023; Pooley *et al.*, 2023). A inclusão da contagem de células de leucócitos e linfócitos na avaliação da classificação de neutralização contra o SC2 é um novo parâmetro que pode servir como ferramenta complementar valiosa, dada sua correlação significativa com a capacidade de neutralização (Tabela 12) e o baixo custo associado à técnica de contagem, facilmente realizada por meio de exames de hemograma. A combinação desses resultados e sua comparação com os dados de anticorpos IgG específicos contra o SC2 (anti-N e o anti-S) fortalecem a análise e aumentam a confiança de que os valores de corte determinados refletem a capacidade de neutralização de uma amostra.

As titulações dos níveis séricos de anticorpos totais revelaram ausência de correlações com os resultados de neutralização para GK.1 e JN.1 (Tabela 12), tornando-se, assim, inadequados como preditores de diagnóstico para a avaliação da capacidade de neutralização específica dessas linhagens. Em contraste, os anticorpos IgA específicos contra o SC2 representam uma via adicional de neutralização eficaz, especialmente nos estágios iniciais da infecção. Sua ação em regiões de mucosa, como o trato respiratório e gastrointestinal, desempenha um papel crucial como barreira protetora contra infecções (Choteau *et al.*, 2022). Por outro lado, os anticorpos IgM específicos contra o SC2 também exercem sua função nos estágios iniciais da doença, evitando a progressão para casos mais graves (Vogelzang *et al.*, 2020). Os níveis basais séricos desses dois anticorpos desempenham papéis fundamentais na imunidade humoral contra patógenos em geral. De acordo com a literatura, os níveis de anticorpos IgA parecem aumentar mais rapidamente que os de IgM durante a infecção, possivelmente conferindo uma ação de neutralização ainda mais eficiente que a dos anticorpos IgM. Enquanto os níveis séricos de IgM específicos contra o SC2 tendem a diminuir logo no primeiro mês após a recuperação, os níveis de IgA permanecem elevados até aproximadamente 45 dias após a infecção, antes de começarem a declinar. Ambos os anticorpos têm alta prevalência por

um período mais curto do que os anticorpos IgG, o que pode explicar a ausência de correlação entre seus níveis séricos e a capacidade de neutralização para diferentes linhagens do SC2, que possivelmente está mais associada aos anticorpos IgG (Kurano *et al.*, 2022).

Um dos mecanismos imunológicos que a infecção pelo SC2 pode alterar é a indução anormal de células Th2, que podem permanecer ativas mesmo após a resolução da infecção, resultando em um aumento nos níveis de IgE, podendo causar sintomas de hipersensibilidade desfavorável nos indivíduos. Assim, a indução dos níveis de IgE durante e após a infecção pode não ser um mecanismo benéfico para o indivíduo. A elevação dos níveis séricos de IgE pode ser necessária em casos de exaustão das células T CD4+ *helper*, momento em que os níveis de IgE sérico podem aumentar para combater a infecção viral pelo SC2, mas mesmo isso pode acarretar consequências negativas de hipersensibilidade nos indivíduos (Meltendorf *et al.*, 2022). Portanto, devido a essas induções ocorrerem em circunstâncias específicas, é esperado que os níveis séricos de IgE não apresentem correlações significativas com a capacidade de neutralização contra o SC2 em organismos saudáveis, pois espera-se que seus níveis permaneçam reduzidos com a progressão da COVID-19.

Um achado surpreendente foi a ausência de correlação entre os níveis séricos totais de anticorpos IgG e a capacidade de neutralização contra o SC2. Os anticorpos IgG desempenham um papel fundamental na defesa contra contatos repetidos do indivíduo com antígenos do SC2, sendo os principais agentes de neutralização contra o vírus. Eles também desencadeiam funções efetoras secundárias, ativando células com capacidade de opsonização de partículas virais ou eliminando células infectadas. As subclasses IgG1 e IgG3 são particularmente relevantes na resposta contra infecções virais, com sua detecção associada principalmente à ligação a antígenos específicos (Amellal *et al.*, 2023; Reinig; Shih, 2023). O método de turbidimetria, empregado para avaliar os níveis séricos totais de anticorpos IgG, embora amplamente utilizado, possui limitações, pois determina apenas os níveis de IgG totais ligados a diferentes antígenos. Uma vez que um organismo humano adulto possui anticorpos de memória para diversos patógenos, a correlação específica com a atividade de neutralização pode ser prejudicada pela diluição do *pool* de anticorpos IgG relacionados a outras infecções, tornando-se assim um parâmetro não recomendado para predição diagnóstica da capacidade de neutralização contra linhagens específicas do SC2. Para investigar essa hipótese, foi realizado um teste de correlação

entre os níveis séricos totais de IgG e as titulações de anticorpos IgG anti-S com todos os recrutados do estudo, visando identificar possíveis associações. O resultado obtido torna mais provável a hipótese de que os níveis totais de IgG, ligados a múltiplos antígenos, podem ser diluídos a ponto de não demonstrarem correlação aparente com os níveis específicos de anticorpos IgG contra o SC2 (Figura 26).

Os resultados obtidos revelam uma capacidade satisfatória de neutralização na subpopulação de doadores de sangue avaliada. Dada a baixa prevalência de casos da linhagem GK.1 no Ceará e a ausência de diferenças estatísticas entre os resultados antes e depois da introdução da VOI JN.1, a capacidade dessa subpopulação em neutralizar tanto a GK.1 quanto a JN.1 sugere que os resultados de neutralização podem ser extrapolados para novas linhagens potenciais em Fortaleza. Esse cenário reitera a necessidade contínua de administração de doses adicionais da vacina, especialmente para aqueles indivíduos com baixa soroconversão para IgG anti-S. Além disso, a viabilidade econômica e a robustez adicional na predição da neutralização contra o SC2 são evidentes ao se utilizar ferramentas diagnósticas complementares e indiretas, como a contagem de células de leucócitos e linfócitos, quando combinadas com os testes de IgG anti-S e anti-N. Os achados deste trabalho constituem em parâmetros indicativos, de potencial valor preditivo da capacidade neutralizante sorológica dentro do atual cenário epidemiológico da COVID-19, dominado por linhagens descendentes da subvariante Ômicron BA.2, cujos valores de corte IgG anti-S estimados estavam muito acima dos valores de referência indicados pelo Fabricante para soroconversão (resultado reagente). Os achados com anticorpos específicos e com linfócitos e leucócitos são sugestivos da relação direta da atividade neutralizante com níveis de circulação geral de anticorpos específicos (anti-S e anti-N), mas também da população geral de plasmócitos, que são linfócitos produtores de imunoglobulinas.

Além do tamanho amostral limitado da coorte prospectiva viabilizada para os ensaios neutralizantes e para a imunofenotipagem, uma outra limitação deste trabalho é a inferência da competência imunológica do hospedeiro por meio da quantificação dos níveis específicos de anticorpos IgG anti-SC2, que, apesar de poder permitir a observação de distintos perfis de soroconversão e manutenção de resposta humoral, não necessariamente condizem com a qualidade da resposta humoral neutralizante contra o SARS-CoV-2. Esta, por sua vez, pode variar de acordo com o contexto epidemiológico das variantes circulantes e do nível de suscetibilidade biológica da população. Devido à

natureza do desenho do estudo (baseado, em parte, em amostras de aproveitamento) e disponibilidade restrita dos ensaios comerciais de anticorpos, também não foi possível realizar-se o seguimento e a coleta serial de amostras biológicas em intervalos regulares pré-determinados, nem tampouco a testagem combinada de ambos os ensaios CMIA de anticorpos específicos para totalidade das amostras, o que contribuiu para uma maior heterogeneidade dos dados e restringiu a realização de análises adicionais.

## 7. CONCLUSÃO

Apesar do findar do estado emergencial de pandemia, a avaliação pareada revelou uma taxa elevada de participantes com baixa imunidade humoral associada à infecção natural (resposta anti-N), evidenciada pela frequência significativa do grupo “Não Reagente”. A partir das análises pareadas e transversais de IgG anti-S, a abordagem permitiu avaliar o estado imunológico, considerando também os ciclos de imunização. Estas análises acompanharam os níveis de vacinação em amostras pareadas e transversais, permitindo uma avaliação da evolução dos níveis de anticorpos ao longo do tempo e, em um contexto pós-pandêmico, a análise de parâmetros autodeclarados. Os resultados indicaram uma alta proporção de indivíduos que afirmaram não terem sido infectados pela COVID-19, confirmando que, entre os infectados, o declínio nos níveis de IgG anti-S estavam diretamente correlacionados com o intervalo desde a última infecção. A prevalência de sintomas persistentes pós-COVID-19 levanta questões sobre potenciais consequências neurológicas e cognitivas, destacando a alta proporção de indivíduos que relataram sintomas, como perda de memória, anosmia, ageusia, perda de condicionamento físico, fadiga e impactos na saúde mental.

Os resultados de neutralização para as linhagens GK.1 e JN.1 foram utilizados para a estimativa de valores de corte por modelagem ROC e análises de sensibilidade e especificidade, os quais demonstraram significativa associação com os níveis de IgG anti-S, IgG anti-N, linfócitos e leucócitos. O alto valor de corte de PRNT<sub>90</sub> estimado com os ensaios anti-S referente, reflete provavelmente um cenário epidemiológico de baixa capacidade neutralizante da população no último trimestre de 2023, aliada à alta evasão imunológica e ao escape vacinal das variantes circulantes de SC2 no período. Adicionalmente, a ausência de correlação entre os dados de anticorpos totais com os desfechos deste estudo sugere a possível incapacidade em se associar os anticorpos IgA, IgM e IgG totais com anticorpos específicos, como os contra o SC2. A ausência de correlação com o IgE foi de certa forma um resultado esperado, dada a sua maior associação com quadros agudos e cenários de hipersensibilidade.

Embora o estado emergencial da pandemia já se tenha prescrito, os resultados deste trabalho corroboram outros estudos que preconizam a manutenção da cobertura vacinal da população e atualização periódicas dos imunizantes, como estratégia de contenção de novas ondas epidêmicas.

## 8. PERSPECTIVAS FUTURAS

Para a realização da imunofenotipagem, 500 doadores foram convocados. Destes, 70 compareceram, o que totalizou 7 para o grupo “Baixo”, 37 para o grupo “Médio” e 27 para o grupo “Alto”. Em novembro de 2024, as CMSPs dos 70 doadores serão descongeladas em banho-maria a 37°C e homogeneizadas em 9 mL de meio RPMI suplementado com 5% de SFB (meio HR5). Elas serão centrifugadas (1.800 rpm; 10 min; 4°C) e posteriormente homogeneizadas em 4 mL de HR5 contendo 50 U/mL de benzonase. As amostras serão contadas utilizando o contador Scepter™ 3.0 (Merck, Alemanha) e centrifugadas novamente (1.800 rpm; 10 min; 4°C). As células serão diluídas a uma concentração de  $1 \times 10^6$  células/100µL. Para cada tratamento, serão empregadas  $1 \times 10^6$  células, enquanto  $5 \times 10^5$  células serão reservadas para cada uma das seguintes condições: Não-marcado, Simples-Marcado e *Fluorescent Minus One* (FMO).

Cada amostra será submetida a três tratamentos distintos: i) Não estimulado; ii) Estimulado com 50 ng/mL de PMA e 1 µg/mL de Ionomicina; iii) Estimulado com  $1 \times 10^6$  cópias da cepa Delta do SC2 inativado por aquecimento. Todas as amostras e controles serão alocados em uma placa de cultura celular de fundo “U”, com um volume final de 250 µL, e incubados (6 horas; 5% de CO<sub>2</sub>; 37°C). Após duas horas de incubação, será adicionado brefeldina A 1X. Após o período total de incubação, a placa será centrifugada (1.800 rpm; 5 min; 4°C), as células serão lavadas com 200 µL de *MACS buffer* (RPMI, 2% de SFB, 2 mM de EDTA) e centrifugadas novamente (1.800 rpm; 5 min; 4°C). Em seguida, as células e os controles serão incubados (20 min; temperatura ambiente; ausência de luz) com o anticorpo *live-dead* (Invitrogen). Após essa etapa, as células serão incubadas (30 min; temperatura ambiente; ausência de luz) com um painel de anticorpos de superfície (Tabela 14).

Tabela 14 – Definição de cada parâmetro utilizado para as análises de citometria de fluxo

Parâmetro	Conjugação	Clone	Marca	Nº de catálogo	Função
CD3	BB515	UCHT1	BD	564465	Avaliar a proporção e quantidades de linfócitos T auxiliares e citotóxicos
CD19	APC	HIB19	BD	555415	Definir a linhagem de linfócitos B.

CD20	APC	2H7	BD	559776	Avaliar a ativação, proliferação e diferenciação de linfócitos B
CD279	PE	MOPC-21	BD	557946	Avaliar a regulação da ativação de células T (PD-1)
CD95	BV421	DX2	BD	562616	Avaliar a expressão em linfócitos e leucócitos e indução à apoptose
CD38	APC-H7	HB7	BD	653314	Avaliar a expressão em leucócitos e linfócitos e ativação celular
CD138	V500	MI15	BD	650659	Avaliar a presença e ativação de plasmócitos em linfócitos.
CD27	PERCP-CY5.5	M-T271	BD	560612	Avaliar a memória celular de linfócitos T e a ativação e produção de imunoglobulinas pelos linfócitos B
CD119	BV650	GIR-208	BD	743029	Avaliar IFN-1 em macrófagos
Live/Dead	APC-R700	-	Invitrogen	L34983	Avaliar a viabilidade celular

Fonte: BD Biosciences, 2024; Thermo Fisher, 2024

Após a incubação, será adicionado *MACS buffer* para realizar a lavagem das células, que serão posteriormente centrifugadas (1.800 rpm, 5 min, 4°C). Após, 200 µL de PFA 4% será adicionado, as amostras serão incubadas (10 min; 4°C; escuro) e centrifugadas (2.000 rpm; 5 min; 4 °C). Após essa etapa, será adicionado 100 µL de PBS 1X nas células, que serão novamente centrifugadas (2.000 rpm; 5 min; 4°C). Por fim, 300 µL de PBS 1X será adicionado para a aquisição no equipamento FACSCelesta (BD).

Antecipa-se que os resultados deste trabalho possibilitarão realizar a imunofenotipagem dos grupos selecionados de amostras, de forma tal a determinar os

padrões de populações celulares que possam estar associados com os desfechos e variáveis explanatórias deste estudo.

As células não viáveis serão excluídas do estudo a partir do uso de uma estratégia de *gates*. Com as células viáveis, serão feitas as análises de avaliação dos parâmetros imunológicos supracitados. Espera-se que o ensaio com o estímulo de PMA-ionomicina ative os linfócitos B viáveis, promovendo sua proliferação e diferenciação como parte da resposta imunológica adaptativa, mesmo na ausência de antígenos específicos do SARS-CoV-2. A quantidade de linfócitos B específicos para o SARS-CoV-2 será avaliada por meio do ensaio com o vírus inativado, sendo crucial comparar essa resposta específica com a resposta não específica para entender a indução imunológica contra o vírus. Além disso, a análise da taxa de plasmócitos, que são células B diferenciadas capazes de produzir e secretar grandes quantidades de imunoglobulinas, utilizando o marcador CD138, permitirá investigar a capacidade do doador em produzir imunoglobulinas G. Simultaneamente, os ensaios irão avaliar as respostas de morte celular, especialmente por meio dos marcadores CD279 (PD-1) e CD95 (Fas), fornecendo insights sobre a regulação e eficácia da resposta imunológica contra o vírus. Estes resultados, correlacionados diretamente com os níveis específicos de IgG contra o SARS-CoV-2, serão essenciais para entender a robustez da resposta imunológica específica em um contexto pós-pandêmico.

Em trabalhos futuros, espera-se realizar novos cruzamentos e associações com outras variáveis do estudo, como reações adversas da vacinação e investigação, em doadores de sangue, quanto a evolução para casos mais graves de COVID-19 e suas consequências. Também serão incorporados novos segmentos populacionais, como de imunodeficiência primária e pacientes transplantados de órgãos sólidos e de medula óssea, que não foram possíveis de serem incorporados para este estudo.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABBOTT. **SC2 IgG II Quant: for use with architect system**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://s3.euwest2.amazonaws.com/s3.privatecoronavirustests.com/content/pages/Quantitative.pdf>. Acesso em: 21 fev. 2024.
- ABELA, Irene A. et al. Cross-protective HCoV immunity reduces symptom development during SC2 infection. **Mbio**, [s. l.], v. 15, n. 2, p. e02722-23, 2024.
- ACOSTA, R. Alfonso Hernandez et al. COVID-19 pathogenesis and clinical manifestations. **Infectious Disease Clinics**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 231-249, 2022.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **8º Boletim de produção hemoterápica do Brasil**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: Relatórios de produção hemoterápica - Hemoprod — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa ([www.gov.br](http://www.gov.br)). Acesso em: 09 fev. 2024.
- AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Alterada regra para doação de sangue**. [S. l.: s. n.], 2022. Disponível em: Alterada regra para doação de sangue — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa ([www.gov.br](http://www.gov.br)). Acesso em: 10 fev. 2024.
- ALGAISSI, Abdullah et al. Quantification of the Middle East respiratory syndrome-coronavirus RNA in tissues by quantitative real-time RT-PCR. **MERS Coronavirus: Methods and Protocols**, [s. l.], p. 99-106, 2020.
- ALHAMID, Galyah *et al.* SC2 detection methods: A comprehensive review. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [s. l.], p. 103465, 2022.
- ALSULAIMAN, Jomana W.; KHASAWNEH, Ashraf I.; KHEIRALLAH, Khalid A. Could “trained immunity” be induced by live attenuated vaccines protect against COVID-19? Review of available evidence. **The Journal of Infection in Developing Countries**, [s. l.], v. 14, n. 09, p. 957-962, 2020.
- ALTMANN, Daniel M. *et al.* The immunology of long COVID. **Nature Reviews Immunology**, [s. l.], v. 23, n. 10, p. 618-634, 2023.
- ALUKAL, Joseph J.; NAQVI, Haider A.; THULUVATH, Paul J. Vaccination in chronic liver disease: an update. **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 937-947, 2022.
- ANDRADE, Marileia Chaves *et al.* New variants of SC2, vaccine immune response and the Brazilian reality. **Exploration of Immunology**, [s. l.], v. 1, n. 5, p. 432-439, 2021.
- ANTRÀS, Pol; REDDING, Stephen J.; ROSSI-HANSBERG, Esteban. Globalization and pandemics. **American Economic Review**, [s. l.], v. 113, n. 4, p. 939-981, 2023.
- ARABI, Yaseen M. *et al.* Lopinavir-ritonavir and hydroxychloroquine for critically ill patients with COVID-19: REMAP-CAP randomized controlled trial. **Intensive care medicine**, [s. l.], v. 47, p. 867-886, 2021.
- ARMAN, Benediktus Yohan *et al.* An Update on SC2 Clinical Trial Results—What We Can Learn for the Next Pandemic. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. 354, 2023.
- AXFORS, Cathrine *et al.* Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. **Nature communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 2349, 2021.
- BALLOUZ, Tala et al. Recovery and symptom trajectories up to two years after SC2 infection: population based, longitudinal cohort study. **bmj**, v. 381, 2023.
- BANHO, Cecília Artico *et al.* Impact of SC2 Gamma lineage introduction and COVID-19 vaccination on the epidemiological landscape of a Brazilian city. **Communications Medicine**, [s. l.], v. 2, n. 1, 2022.

BANSAL, Devendra et al. Dynamics of Anti-S IgG Antibodies Titers after the Second Dose of COVID-19 Vaccines in the Manual and Craft Worker Population of Qatar. **Vaccines**, [s. l.], v. 11, n. 3, p. 496, 2023.

BASSETTI, Matteo; VENA, Antonio; GIACOBBE, Daniele Roberto. The novel Chinese coronavirus (2019-nCoV) infections: Challenges for fighting the storm. **European journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 50, n. 3, p. e13209, 2020.

BAYANI, Fatemeh *et al.* An overview of the vaccine platforms to combat COVID-19 with a focus on the subunit vaccines. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, [S. l.], 2023.

BEIGEL, John H. *et al.* Remdesivir for the treatment of Covid-19—preliminary report. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 383, n. 19, p. 1813-1836, 2020.

BOURGONJE, Arno R. *et al.* Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **The Journal of pathology**, [s. l.], v. 251, n. 3, p. 228-248, 2020.

BRASIL. **Ministério da Saúde Secretaria de Atenção à Saúde Departamento de Atenção Básica**. [S. l.], 2015.

BRASIL. Estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue, bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doenças, e dá outras providências. **Lei Federal nº 7.649, de 25 de janeiro de 1988**, [S. l.], 1988.

BRASIL. **Ministério da Saúde incorpora vacina Covid-19 para crianças de 6 meses a menores de 5 anos no SUS**. [S. l.], 2022.

BROOKS, Samantha K. *et al.* The psychological impact of quarantine and how to reduce it: rapid review of the evidence. **The lancet**, [s. l.], v. 395, n. 10227, p. 912-920, 2020.

BUSS, Lewis F. *et al.* Three-quarters attack rate of SC2 in the Brazilian Amazon during a largely unmitigated epidemic. **Science**, [s. l.], v. 371, n. 6526, p. 288-292, 2021.

BUTLER, Christopher C. *et al.* Azithromycin for community treatment of suspected COVID-19 in people at increased risk of an adverse clinical course in the UK (PRINCIPLE): a randomised, controlled, open-label, adaptive platform trial. **The Lancet**, [s. l.], v. 397, n. 10279, p. 1063-1074, 2021.

CAI, Jing *et al.* Indirect virus transmission in cluster of COVID-19 cases, Wenzhou, China, 2020. **Emerging infectious diseases**, [s. l.], v. 26, n. 6, p. 1343, 2020.

CALLAWAY, Ewen *et al.* A bloody mess’: confusion reigns over naming of new COVID variants. **Nature**, [s. l.], v. 589, n. 7842, p. 339, 2021.

CALLAWAY, Ewen *et al.* How bad is Omicron? What scientists know so far. **Nature**, [s. l.], v. 600, n. 7888, p. 197-199, 2021.

CAMPOLINA, Alessandro Gonçalves et al. O questionário SF-6D Brasil: modelos de construção e aplicações em economia da saúde. **Revista da Associação Médica Brasileira**, [s. l.], v. 56, p. 409-414, 2010.

CANDIDO, Darlan S. *et al.* Evolution and epidemic spread of SC2 in Brazil. **Science**, [s. l.], v. 369, n. 6508, p. 1255-1260, 2020.

CAO, Yunlong *et al.* BA. 2.12. 1, BA. 4 and BA. 5 escape antibodies elicited by Omicron infection. **Nature**, [s. l.], v. 608, n. 7923, p. 593-602, 2022.

CDC. **SC2 Variant Classifications and Definitions**, [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: SC2 Variant Classifications and Definitions (cdc.gov) Acesso em: 11 jan. 2024

CEARÁ. Governo do Estado. Decreto nº 33.519, de 19 de março de 2020 dispõe sobre a intensificação de medidas para enfrentamento da infecção humana pelo novo coronavírus. **Diário Oficial do Estado**, [s. l.], s. 3, n. 056, 2020b. Disponível em: <https://www.cge.ce.gov.br/wp-content/uploads/sites/20/2020/03/DECRETO-N%C2%BA33.519-de-19-de-mar%C3%A7ode-2020..pdf>. Acesso em: 05 jan. 2024

CELE, Sandile *et al.* Omicron extensively but incompletely escapes Pfizer BNT162b2 neutralization. **Nature**, [s. l.], v. 602, n. 7898, p. 654-656, 2022.

CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ (HEMOCE). **Manual para as unidades associadas**. [S. l.], 2022. Disponível em: DIRT.GER\_.0002.r04\_MANUAL\_PARA\_AS\_UNIDADES\_ASSOCIADAS.pdf (hemoce.ce.gov.br) Acesso em 09 fev. 2024.

CHAILLON, A.; SMITH, D. M. Phylogenetic analyses of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SC2) B. 1.1. 7 lineage suggest a single origin followed by multiple exportation events versus convergent evolution. **Clinical Infectious Diseases**, [s. l.], v. 73, n. 12, p. 2314-2317, 2021.

CHAKRABORTY, Chiranjib *et al.* The SC2 Omicron recombinant subvariants XBB, XBB. 1, and XBB. 1.5 are expanding rapidly with unique mutations, antibody evasion, and immune escape properties—an alarming global threat of a surge in COVID-19 cases again? **International Journal of Surgery**, [s. l.], v. 109, n. 4, p. 1041, 2023.

CHALKIAS, Spyros *et al.* A bivalent Omicron-containing booster vaccine against Covid-19. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 387, n. 14, p. 1279-1291, 2022.

CHAMBERS, James P. *et al.* SC2, early entry events. **Journal of Pathogens**, [s. l.], v. 2020, 2020.

CHAN, M. C. HKUMed finds Omicron SC2 can infect faster and better than Delta in human bronchus but with less severe infection in lung. **Brazilian Journal of Implantology and Health Sciences**, [s. l.], v. 4, n. 1, p. 50-54, 2022.

CHARY, Michael *et al.* COVID-19 therapeutics: use, mechanism of action, and toxicity (vaccines, monoclonal antibodies, and immunotherapeutics). **Journal of Medical Toxicology**, [s. l.], v. 19, n. 2, p. 205-218, 2023.

CHAUHAN, Nidhi *et al.* Interpretative immune targets and contemporary position for vaccine development against SARS-CoV-2: a systematic review. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 93, n. 4, p. 1967-1982, 2021.

CHAVDA, Vivek P. *et al.* Nucleic acid vaccines for COVID-19: a paradigm shift in the vaccine development arena. **Biologics**, [s. l.], v. 1, n. 3, p. 337-356, 2021.

CHAVDA, Vivek P.; PANDYA, Radhika; APOSTOLOPOULOS, Vasso. DNA vaccines for SC2: toward third-generation vaccination era. **Expert Review of Vaccines**, [s. l.], v. 20, n. 12, p. 1549-1560, 2021.

CHEN, Chunxia *et al.* Research progress in methods for detecting neutralizing antibodies against SC2. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], p. 115199, 2023.

CHEN, Yaxin *et al.* Living Leukocyte-Based Drug Delivery Systems. **Advanced Materials**, [s. l.], v. 35, n. 17, p. 2207787, 2023.

CHINTHAPATLA, Rukesh *et al.* Interfering with nucleotide excision by the coronavirus 3'-to-5' exoribonuclease. **Nucleic Acids Research**, [s. l.], v. 51, n. 1, p. 315-336, 2023.

CHIVESE, Tawanda *et al.* The prevalence of adaptive immunity to COVID-19 and reinfection after recovery—a comprehensive systematic review and meta-analysis. **Pathogens and global health**, [s. l.], v. 116, n. 5, p. 269-281, 2022.

CHOI, Gihoon; MOEHLING, Taylor J.; MEAGHER, Robert J. Advances in RT-LAMP for COVID-19 testing and diagnosis. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, [s. l.], v. 23, n. 1, p. 9-28, 2023.

CHOI, Jun Yong; SMITH, Davey M. SC2 variants of concern. **Yonsei medical journal**, [s. l.], v. 62, n. 11, p. 961, 2021.

CLEM, Angela S. Fundamentals of vaccine immunology. **Journal of global infectious diseases**, [s. l.], v. 3, n. 1, p. 73, 2011.

COOK, J. G. Creatinine assay in the presence of protein. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 32, n. 3, p. 485-486, 1971.

DAN, Jennifer M. et al. Immunological memory to SC2 assessed for up to 8 months after infection. **Science**, [s. l.], v. 371, n. 6529, p. eabf4063, 2021.

DA SILVA OLIVEIRA, Francisca Andréa *et al.* Genomic surveillance: Circulating lineages and genomic variation of SC2 in early pandemic in Ceará state, Northeast Brazil. **Virus Research**, [s. l.], v. 321, p. 198908, 2022.

DAVIES, Nicholas G. *et al.* Estimated transmissibility and impact of SC2 lineage B. 1.1.7 in England. **Science**, [s. l.], v. 372, n. 6538, p. eabg3055, 2021.

DAY, Judy D. *et al.* Divergent COVID-19 disease trajectories predicted by a DAMP-centered immune network model. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 12, p. 754127, 2021.

DECLERCQ, Jozefien; DE LEEUW, Elisabeth; LAMBRECHT, Bart N. Inflammasomes and IL-1 family cytokines in SC2 infection: from prognostic marker to therapeutic agent. **Cytokine**, [s. l.], v. 157, p. 155934, 2022.

DE LIMA ARRUDA, Alcínia Braga *et al.* Perfil dos doadores de sangue de primeira vez de um serviço de hemoterapia. **Brazilian Journal of Health Review**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 5135-5147, 2019.

DENG, Xuewen; TERUNUMA, Hiroshi; NIEDA, Mie. Exploring the Utility of NK Cells in COVID-19. **Biomedicines**, [s. l.], v. 10, n. 5, p. 1002, 2022.

DE SOUZA, Evanice Avelino *et al.* Perceived barriers to physical activity during the 2nd lockdown in a northeastern state of Brazil. **Sport Sciences for Health**, [s. l.], v. 18, n. 2, p. 473-480, 2022.

DENG, S. Q.; PENG, H. J. Characteristics of and public health responses to the coronavirus disease 2019 outbreak in China. **J. Clinical Medicine**, [s. l.], v. 575, n. 9, 2020.

DI COLLI, Leonardo. **Primodoadores de sangue: retornos para doação e inaptidão temporária**, [S. l.], 2012.

DO AMARAL, Isabella Pinheiro Costa. **Análise comparativa entre os métodos de HPLC e Imunoensaio por Turbidimetria na dosagem de Hemoglobina Glicada**, [S. l.], 2017.

DOUMAS, Basil T.; WATSON, W. Ard; BIGGS, Homer G. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green. **Clinica chimica acta**, [s. l.], v. 31, n. 1, p. 87-96, 1971.

EKINS, Roger P. The estimation of thyroxine in human plasma by an electrophoretic technique. **Clinica Chimica Acta**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 453-459, 1960.

ELLIOTT, Paul *et al.* Dynamics of a national Omicron SC2 epidemic during January 2022 in England. **Nature Communications**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 4500, 2022.

EL-MAGHRABEY, Mahmoud *et al.* Comprehending COVID-19 diagnostic tests and greenness assessment of its reported detection methods. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], p. 117379, 2023.

EL-SAYED, Amr; KAMEL, Mohamed. Climatic changes and their role in emergence and re-emergence of diseases. **Environmental Science and Pollution Research**, [s. l.], v. 27, p. 22336-22352, 2020.

ENGLAND, Public Health. SC2 variants of concern and variants under investigation in England. **Technical briefing**, [s. l.], v. 23, 2021.

EVANS, John P. *et al.* Neutralization of SC2 Omicron sub-lineages BA. 1, BA. 1.1, and BA. 2. **Cell host & microbe**, [s. l.], v. 30, n. 8, p. 1093-1102. e3, 2022.

FABINY, Diane L.; ERTINGSHAUSEN, Gerhard. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with the Centrifichem. **Clinical chemistry**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 696-700, 1971.

FAJGENBAUM, David C.; JUNE, Carl H. Cytokine storm. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 383, n. 23, p. 2255-2273, 2020.

FAN, Yao *et al.* SC2 Omicron variant: recent progress and future perspectives. **Signal transduction and targeted therapy**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 141, 2022.

FARIA, Nuno *et al.* **Genomics and epidemiology of a novel SC2 lineage in Manaus, Brazil (preprint)**, [S. l.], 2021.

FARIAS, Carlos Roberto *et al.* As características do perfil do doador de sangue no Brasil. **Revista Rede de Cuidados em Saúde**, [s. l.], v. 11, n. 3, 2017.

FARMANI, Ahmad Reza *et al.* Anti-IgE monoclonal antibodies as potential treatment in COVID-19. **Immunopharmacology and immunotoxicology**, [s. l.], v. 43, n. 3, p. 259-264, 2021.

FERNANDEZ-DE-LAS-PEÑAS, Cesar *et al.* Persistence of post-COVID symptoms in the general population two years after SC2 infection: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Infection**, [s. l.], 2023.

FILCHAKOVA, Olena *et al.* Review of COVID-19 testing and diagnostic methods. **Talanta**, [s. l.], v. 244, p. 123409, 2022.

FINKEL, Yaara *et al.* The coding capacity of SC2. **Nature**, [s. l.], v. 589, n. 7840, p. 125-130, 2021.

FIOCRUZ, **Fiocruz esclarece sobre vacina COVID-19**. [S. l.: s. n.], 2023. Disponível em: Fiocruz esclarece sobre vacina Covid-19. Acesso em: 25 nov. 2024.

FLODGREN, G. M. Immunity after SC2 infection, 1st update—a rapid review. **Norwegian Institute of Public Health**, 2020.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Memorandum Explaining Basis for Revocation of Emergency Use Authorization for Emergency Use of Chloroquine Phosphate and Hydroxychloroquine Sulfate**. [S. l.], 2020. Disponível em: Letter revoking EUA for chloroquine phosphate and hydroxychloroquine sulfate, 6/15/2020 (fda.gov). Acesso em: 24 jan. 2024.

FRANCIS, Andre Ian *et al.* Review of COVID-19 vaccine subtypes, efficacy and geographical distributions. **Postgraduate medical journal**, [s. l.], v. 98, n. 1159, p. 389-394, 2022.

FU, Yajing; CHENG, Yuanxiong; WU, Yuntao. Understanding SC2-mediated inflammatory responses: from mechanisms to potential therapeutic tools. **Virologica Sinica**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 266-271, 2020.

FUJINO, Takahisa *et al.* Novel SC2 variant in travelers from Brazil to Japan. **Emerging infectious diseases**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 1243, 2021.

FUNK, Tjede *et al.* Characteristics of SC2 variants of concern B. 1.1. 7, B. 1.351 or P. 1: data from seven EU/EEA countries, weeks 38/2020 to 10/2021. **Eurosurveillance**, [s. l.], v. 26, n. 16, p. 2100348, 2021.

FURTADO, Remo HM *et al.* Azithromycin in addition to standard of care versus standard of care alone in the treatment of patients admitted to the hospital with severe COVID-19 in Brazil (COALITION II): a randomised clinical trial. **The Lancet**, [s. l.], v. 396, n. 10256, p. 959-967, 2020.

GAO, Qiang *et al.* Development of an inactivated vaccine candidate for SC2. **Science**, [s. l.], v. 369, n. 6499, p. 77-81, 2020.

GEOGHEGAN, Jemma L. *et al.* Genomic epidemiology reveals transmission patterns and dynamics of SC2 in Aotearoa New Zealand. **Nature communications**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 6351, 2020.

GHOSH, Sourish *et al.*  $\beta$ -Coronaviruses use lysosomal organelles for cellular egress. **bioRxiv**, [s. l.], p. 2020.07. 25.192310, 2020.

GOSWAMI, Barna *et al.* Emergence of SC2 variant of interest B.1.525 (Eta) in Bangladesh. **Biologicals**, [s. l.], v. 84, p. 101714, 2023. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1045105623000520>.

GOTE, Vrinda *et al.* A comprehensive Review of mRNA vaccines. **International journal of molecular sciences**, [s. l.], v. 24, n. 3, p. 2700, 2023.

GOVERNO DO ESTADO DO CEARÁ. **Boletim epidemiológico novo coronavírus (COVID-19)**, [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://indicadores.integrasus.saude.ce.gov.br/indicadores/indicadores-coronavirus/coronavirus-ceara>. Acesso em 05/01/2024

GRAHAM, Flora. Daily briefing: Is subvariant XBB. 1.5 a global threat?. **Nature**, 2023.

GRÄSBECK, R. INTERNATIONAL FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY. **J. Clin. Chem. Clin. Biochem**, [s. l.], v. 17, n. 5, p. 337-339, 1979.

GUAN, Yi *et al.* Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. **Science**, [s. l.], v. 302, n. 5643, p. 276-278, 2003.

GUO, Liyan *et al.* Targetable elements in SC2 S2 subunit for the design of pan-coronavirus fusion inhibitors and vaccines. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 197, 2023.

HABLI, Zeina *et al.* COVID-19 in-vitro diagnostics: state-of-the-art and challenges for rapid, scalable, and high-accuracy screening. **Frontiers in bioengineering and biotechnology**, [s. l.], v. 8, p. 1562, 2021.

HALLAL, Pedro C. SOS Brazil: science under attack. **The Lancet**, [s. l.], v. 397, n. 10272, p. 373-374, 2021.

HAN, Qingmei *et al.* Coronavirus 2019-nCoV: A brief perspective from the front line. **Journal of Infection**, [s. l.], v. 80, n. 4, p. 373-377, 2020.

HARRIS, Emily. FDA grants full approval to paxlovid, COVID-19 antiviral treatment. **Jama**, [s. l.], v. 329, n. 24, p. 2118-2118, 2023.

HEFNAWY, Mahmoud T. *et al.* Could the Omicron BQ. 1 sub-variant threaten to reverse the worldwide decline in COVID cases?. **IJS Global Health**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. e106, 2023.

HELMS, Julie *et al.* High risk of thrombosis in patients with severe SC2 infection: a multicenter prospective cohort study. **Intensive care medicine**, [s. l.], v. 46, n. 6, p. 1089-1098, 2020.

HEMOCE. **Ceará divide estoque com outros estados na pandemia**. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: <https://www.hemoce.ce.gov.br/2021/01/19/com-mais-de-90-mil-doacoes-de-sangue-ceara-divide-estoque-com-outros-estados/>. Acesso em: 10 fev. 2024.

HEMOCE. **Etapas para a doação de sangue**. [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: Etapas para Doação de Sangue - Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceara ([hemoce.ce.gov.br](http://hemoce.ce.gov.br)). Acesso em 10 fev. 2024.

HEMOCE. **‘A primeira doação a gente nunca esquece’: Hemoce realiza campanha para atrair novos doadores de sangue**. [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: ‘A Primeira Doação a Gente Nunca Esquece’: Hemoce realiza campanha para atrair novos doadores de sangue - Secretaria da Saúde do Ceará ([saude.ce.gov.br](http://saude.ce.gov.br)). Acesso em 01 jun. 2024.

HEMOCE. **Outros motivos de recusa à doação**. [S. l.], 2024.

HERMOSILLA, Jesús *et al.* Analysing the In-Use Stability of mRNA-LNP COVID-19 Vaccines Comirnaty™(Pfizer) and Spikevax™(Moderna): A Comparative Study of the Particulate. **Vaccines**, [s. l.], v. 11, n. 11, p. 1635, 2023.

HOFFMANN, Markus *et al.* SC2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **Cell**, [s. l.], v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

HOFFMANN, Markus *et al.* The Omicron variant is highly resistant against antibody-mediated neutralization: Implications for control of the COVID-19 pandemic. **Cell**, [s. l.], v. 185, n. 3, p. 447-456. e11, 2022.

HORBY, Peter *et al.* SAGE meeting paper: Cover sheet. In: **Meeting date**. [S. l.], 2021.

HOSSMANN, Carlos Henrique Stagi. Triagem dos candidatos à doação de sangue como fator de segurança transfusional e proteção à saúde dos doadores. **Rev Sau Aer**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 33-39, 2020.

IACOPETTA, Domenico *et al.* COVID-19 at a Glance: An Up-to-Date Overview on Variants, 103 Drug Design and Therapies. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 3, 2022.

IBGE. **Cidades e Estados**. [S. l.: s. n.], 2022. Disponível em: Fortaleza (CE) | Cidades e Estados | IBGE. Acesso em: 01 jun. 2024

IKETANI, Sho *et al.* Antibody evasion properties of SC2 Omicron sublineages. **Nature**, [s. l.], v. 604, n. 7906, p. 553-556, 2022.

IULIANO, A. Danielle *et al.* Trends in disease severity and health care utilization during the early Omicron variant period compared with previous SC2 high transmission periods—United States, December 2020–January 2022. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, [s. l.], v. 71, n. 4, p. 146-152, 2022.

IYANIWURA, Sarafa A. *et al.* Understanding the impact of mobility on COVID-19 spread: A hybrid gravity-metapopulation model of COVID-19. **PLOS Computational Biology**, [s. l.], v. 19, n. 5, p. e1011123, 2023.

JACOBS, Molly M.; EVANS, Elizabeth; ELLIS, Charles. Racial, ethnic, and sex disparities in the incidence and cognitive symptomology of long COVID-19. **Journal of the National Medical Association**, [s. l.], v. 115, n. 2, p. 233-243, 2023.

JAQUEMAR, M. *et al.* A-278 Development and Validation of Platform Independent, Turbidimetric SC2 Total Antibody Assay. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 69, n. Supplement\_1, p. hvad097. 245, 2023.

JAYK BERNAL, Angélica *et al.* Molnupiravir for oral treatment of Covid-19 in nonhospitalized patients. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 386, n. 6, p. 509-520, 2022.

JIANG, Shibo; HILLYER, Christopher; DU, Lanying. Neutralizing antibodies against SC2 and other human coronaviruses. **Trends in immunology**, [s. l.], v. 41, n. 5, p. 355-359, 2020.

JOUDEH, Anwar I. *et al.* Efficacy and safety of mRNA and AstraZeneca COVID-19 vaccines in patients with autoimmune rheumatic diseases: A systematic review. **Vaccine**, [s. l.], v. 41, n. 26, p. 3801-3812, 2023.

JUNG, Yujin *et al.* Comparative analysis of primer–probe sets for RT-qPCR of COVID-19 causative virus (SC2). **ACS infectious diseases**, [s. l.], v. 6, n. 9, p. 2513-2523, 2020.

KARIA, Rutu *et al.* COVID-19 and its modes of transmission. **SN comprehensive clinical medicine**, [s. l.], v. 2, n. 10, p. 1798-1801, 2020.

KARIM, Salim S. Abdool; KARIM, Quarraisha Abdool. Omicron SC2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. **The lancet**, [s. l.], v. 398, n. 10317, p. 2126-2128, 2021.

KIRCHBERGER, Inge *et al.* Post-COVID-19 syndrome in non-hospitalized individuals: healthcare situation 2 years after SC2 infection. **Viruses**, [s. l.], v. 15, n. 6, p. 1326, 2023.

KOHN, Laurence *et al.* Long COVID and return to work: a qualitative study. **Occupational Medicine**, [s. l.], v. 74, n. 1, p. 29-36, 2024.

KORBER, Bette *et al.* Tracking changes in SC2 spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. **Cell**, [s. l.], v. 182, n. 4, p. 812-827. e19, 2020.

KURANO, Makoto et al. Response kinetics of different classes of antibodies to SARS-CoV2 infection in the Japanese population: The IgA and IgG titers increased earlier than the IgM titers. **International Immunopharmacology**, v. 103, p. 108491, 2022.

LAMARCA, Alessandra P. *et al.* Genomic surveillance tracks the first community outbreak of the SC2 delta (B. 1.617. 2) variant in Brazil. **Journal of Virology**, [s. l.], v. 96, n. 2, p. e01228-21, 2022.

LAMERS, Mart M.; HAAGMANS, Bart L. SC2 pathogenesis. **Nature reviews microbiology**, [s. l.], v. 20, n. 5, p. 270-284, 2022.

LAMPRINO, Malamatenia *et al.* COVID-19 vaccines adverse events: Potential molecular mechanisms. **Immunologic Research**, [s. l.], v. 71, n. 3, p. 356-372, 2023.

LI, Geng *et al.* Coronavirus infections and immune responses. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 92, n. 4, p. 424-432, 2020.

LI, Wendong *et al.* Bats are natural reservoirs of SARS-like coronaviruses. **Science**, [s. l.], v. 310, n. 5748, p. 676-679, 2005.

LIM, Xin Rong *et al.* Pseudo-anaphylactic reactions to Pfizer BNT162b2 vaccine: report of 3 cases of anaphylaxis post Pfizer BNT162b2 vaccination. **Vaccines**, [s. l.], v. 9, n. 9, p. 974, 2021.

LIMA, Arlene Almeida. **Sorovigilância da prevalência de IGG anti-SC2 em doadores de sangue no Ceará em 2020 e 2021**, [S. l.], 2022.

LIU, Binjian *et al.* An automated chemiluminescent immunoassay (CLIA) detects SC2 neutralizing antibody levels in COVID-19 patients and vaccinees. **International Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 115, p. 116-125, 2022.

LIU, Jia *et al.* Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SC2 infection in vitro. **Cell discovery**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 16, 2020.

LIU, Ying; ROCKLÖV, Joacim. The effective reproductive number of the Omicron variant of SC2 is several times relative to Delta. **Journal of Travel Medicine**, [s. l.], v. 29, n. 3, p. taac037, 2022.

LO, Martin W.; KEMPER, Claudia; WOODRUFF, Trent M. COVID-19: complement, coagulation, and collateral damage. **The Journal of Immunology**, [s. l.], v. 205, n. 6, p. 1488-1495, 2020.

LOU, Zhiyong; RAO, Zihe. The life of SC2 inside cells: Replication–transcription complex assembly and function. **Annual Review of Biochemistry**, [s. l.], v. 91, p. 381-401, 2022.

LOW, Zheng Yao *et al.* SC2 non-structural proteins and their roles in host immune evasion. **Viruses**, [s. l.], v. 14, n. 9, p. 1991, 2022.

MACIEL, Ethel *et al.* A campanha de vacinação contra o SC2 no Brasil e a invisibilidade das evidências científicas. **Ciência & Saúde Coletiva**, [s. l.], v. 27, p. 951-956, 2022.

MAGNAVITA, Nicola *et al.* SARS/MERS/SC2 outbreaks and burnout syndrome among healthcare workers. An umbrella systematic review. **International journal of environmental research and public health**, [s. l.], v. 18, n. 8, p. 4361, 2021.

MALIK, Yasmin A. Properties of coronavirus and SC2. **The Malaysian journal of pathology**, [s. l.], v. 42, n. 1, p. 3-11, 2020.

MANSOURABADI, Amir Hossein et al. B lymphocytes in COVID-19: a tale of harmony and discordance. **Archives of Virology**, v. 168, n. 5, p. 148, 2023.

MARTINS, VIDIGAL FERNANDES *et al.* DOAÇÃO DE SANGUE NO BRASIL: uma abordagem histórica. **Revista Científica e-Locução**, [s. l.], v. 1, n. 20, p. 25-25, 2021.

MEHTA, Puja R. *et al.* Cerebral venous sinus thrombosis and thrombocytopenia after COVID-19 vaccination—A report of two UK cases. **Brain, behavior, and immunity**, [s. l.], v. 95, p. 514-517, 2021.

MELTENDORF, Stefan et al. IL-13 determines specific IgE responses and SARS-CoV-2 immunity after mild COVID-19 and novel mRNA vaccination. **European Journal of Immunology**, [s. l.], v. 52, n. 12, p. 1972-1979, 2022.

MESEDA, Clement A. *et al.* MVA vector expression of SC2 spike protein and protection of adult Syrian hamsters against SC2 challenge. **npj Vaccines**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 145, 2021.

MINISTÉRIO DA SAÚDE (BRASIL). **Guia de vigilância epidemiológica: emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo Coronavírus 2019: vigilância integrada de Síndromes Respiratórias Agudas: COVID-19**. Secretaria de Vigilância em Saúde. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: [https://portalarquivos.saude.gov.br/images/af\\_gvs\\_coronavirus\\_bago20\\_ajustes-finais\\_2.pdf..](https://portalarquivos.saude.gov.br/images/af_gvs_coronavirus_bago20_ajustes-finais_2.pdf..) Acesso em: 05 jan. 2024

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). **Sobre a doença: O que é a COVID-19**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/sobre-a-doenca#como-se-proteger>. Acesso em: 05 jan. 2024

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Brasil consegue ampliar transfusões de sangue, mas coleta diminui**, [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: Brasil consegue ampliar transfusões de sangue, mas coleta diminui — Ministério da Saúde (www.gov.br). Acesso em: 10 fev. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Calendário de Vacinação**. [S. l.: s. n.], 2024a - Calendário de Vacinação — Ministério da Saúde (www.gov.br) Acesso em: 23 jan. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Como se proteger?**, [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: Como se proteger? — Ministério da Saúde (www.gov.br). Acesso em: 04 jan. 2024.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. **Diário Oficial da União**, [s. l.], v. 1, p. 37-37, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Portaria nº 158, de 4 de fevereiro de 2016. **Diário Oficial da União**, [s. l.], v. 1, p. 37-37, 2016.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa Nacional de Imunizações - Vacinação**. [S. l.], 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Vacinômetro**, [S. l.: s. n.], 2024a. Disponível em: Vacinometro COVID-19 (saude.gov.br). Acesso em: 23 jan. 2024.

MONTEIRO, D. K.; COMPARSI, B. Principais fatores associados à inaptidão temporária e permanente de candidatos à doação de sangue. **Rev Saúde Integr [Internet]**, [s. l.], v. 8, p. 15-16, 2015.

MOUSAVIZADEH, Leila; GHASEMI, Sorayya. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. **Journal of Microbiology, Immunology and Infection**, [s. l.], v. 54, n. 2, p. 159-163, 2021.

MULANGU, Sabue *et al.* A randomized, controlled trial of Ebola virus disease therapeutics. **New England journal of medicine**, [s. l.], v. 381, n. 24, p. 2293-2303, 2019.

NAIK, Roopa *et al.* From emergence to endemicity: a comprehensive review of COVID-19. **Cureus**, [s. l.], v. 15, n. 10, 2023.

NASROLLAHI, Hamid et al. Immune responses in mildly versus critically ill COVID-19 patients. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, p. 1077236, 2023.

NAVECA, Felipe Gomes *et al.* COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P. 1 emergence. **Nature medicine**, [s. l.], v. 27, n. 7, p. 1230-1238, 2021.

NEUMAN, Benjamin W. *et al.* A structural analysis of M protein in coronavirus assembly and morphology. **Journal of structural biology**, [s. l.], v. 174, n. 1, p. 11-22, 2011.

NISHIGA, Masataka *et al.* COVID-19 and cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical perspectives. **Nature Reviews Cardiology**, [s. l.], v. 17, n. 9, p. 543-558, 2020.

NYARUABA, Raphael *et al.* Digital PCR applications in the SC2/COVID-19 era: A roadmap for future outbreaks. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 35, n. 3, p. e00168-21, 2022.

OLIVEIRA, M. I. A. *et al.* O Impacto Da Pandemia Covid-19 Na Manutencao Do Estoque De Sangue Em Um Hemocentro No Ceara. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, [s. l.], v. 44, p. S665-S666, 2022.

OMS. **Updated working definitions and primary actions for SC2 variants, 4 October 2023**, [S. l.: s. n.], 2023b. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/annex1\\_updated\\_working\\_definitions\\_17-08-2023.pdf?sfvrsn=2cde3a06\\_7](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/annex1_updated_working_definitions_17-08-2023.pdf?sfvrsn=2cde3a06_7). Acesso em: 11 jan. 2024.

OMS. **Tracking SC2 variants**, [S. l.: s. n.], Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SC2-variants/> Acesso em: 11 jan. 2024

OMS. **Immunization Agenda 2030: A Global Strategy To Leave No One**, [S. l.: s. n.], Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/immunization-agenda-2030-a-global-strategy-to-leave-no-one-behind>. Acesso em 23 jan. 2024

ORTEGA, Miguel A. *et al.* An integrative look at SC2. **International journal of molecular medicine**, [s. l.], v. 47, n. 2, p. 415-434, 2021.

PARK, Su Eun. Epidemiology, virology, and clinical features of severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SC2; Coronavirus Disease-19). **Clinical and experimental pediatrics**, [s. l.], v. 63, n. 4, p. 119, 2020.

PARUMS, Dinah V. The XBB. 1.5 ('Kraken') Subvariant of Omicron SC2 and its Rapid Global Spread. **Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research**, [s. l.], v. 29, p. e939580-1, 2023.

PEGHIN, Maddalena *et al.* Post-COVID-19 syndrome 2 years after the first wave: The role of humoral response, vaccination and reinfection. In: **Open Forum Infectious Diseases**. US: Oxford University Press, [s. l.], 2023. p. ofad364.

PETERS, Alexandra *et al.* Understanding the emerging coronavirus: what it means for health security and infection prevention. **Journal of Hospital Infection**, [s. l.], v. 104, n. 4, p. 440-448, 2020.

PIERCE, Janet D. *et al.* Post-COVID-19 syndrome. **Nursing research**, [s. l.], v. 71, n. 2, p. 164-174, 2022.

PILLAI, Shiv; ABBAS, Abul K.; LICHTMAN, Andrew H. H. **Imunologia celular e molecular**, [S. l.], 2019.

PLANTE, Jessica A. *et al.* Spike mutation D614G alters SC2 fitness. **Nature**, [s. l.], v. 592, n. 7852, p. 116-121, 2021.

PLEBANI, Mario *et al.* Performance of the COVID19SEROSpeed IgM/IgG rapid test, an immunochromatographic assay for the diagnosis of SC2 infection: a multicenter European study. **Journal of clinical microbiology**, [s. l.], v. 59, n. 2, p. 10.1128/jcm.02240-20, 2021.

POOLEY, Nick *et al.* Durability of vaccine-induced and natural immunity against COVID-19: a narrative review. **Infectious Diseases and Therapy**, [s. l.], v. 12, n. 2, p. 367-387, 2023.

PREFEITURA DE FORTALEZA. **Boletim Epidemiológico Fortaleza – Covid-19**. [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: [Boletim Epidemiologico Fortaleza - Covid-19 Prefeitura de Fortaleza](#). Acesso em: 01 jun. 2024.

PRETORIUS, Ethersia *et al.* Prevalence of symptoms, comorbidities, fibrin amyloid microclots and platelet pathology in individuals with Long COVID/Post-Acute Sequelae of COVID-19 (PASC). **Cardiovascular diabetology**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 148, 2022.

PRIVOR-DUMM, Lois *et al.* Vaccine access, equity and justice: COVID-19 vaccines and vaccination. **BMJ Global Health**, [s. l.], v. 8, n. 6, 2023.

PRÓ-SANGUE. **Quem não pode doar?** [S. l.], 2024.

QIU, Wuqi *et al.* The impacts on health, society, and economy of SARS and H7N9 outbreaks in China: a case comparison study. **Journal of environmental and public health**, [s. l.], v. 2018, 2018.

QU, Panke *et al.* Distinct neutralizing antibody escape of SC2 Omicron subvariants BQ. 1, BQ. 1.1, BA. 4.6, BF. 7 and BA. 2.75. 2. **Biorxiv**, [S. l.], 2022.

RANJBAR, Keivan *et al.* Methylprednisolone or dexamethasone, which one is superior corticosteroid in the treatment of hospitalized COVID-19 patients: a triple-blinded randomized controlled trial. **BMC infectious diseases**, [s. l.], v. 21, p. 1-8, 2021.

RAVI, Neeraja *et al.* Diagnostics for SC2 detection: A comprehensive review of the FDA-EUA COVID-19 testing landscape. **Biosensors and bioelectronics**, [s. l.], v. 165, p. 112454, 2020.

REDE GENÔMICA FIOCRUZ. **Genomahcov**, [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: <https://www.genomahcov.fiocruz.br>. Acesso em: 04 jan. 2024.

REDE GENÔMICA FIOCRUZ. **Relatório 27 Rede Genômica Fiocruz 2 de Dezembro de 2022 a 28 de Fevereiro de 2023**. [S. l.: s. n.], 2023.

RILEY, Lee W. Differentiating epidemic from endemic or sporadic infectious disease occurrence. **Microbiology spectrum**, [s. l.], v. 7, n. 4, p. 7.4. 15, 2019.

RODKEY, F. Lee. Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 11, n. 4, p. 478-487, 1965.

RONG, Guoguang *et al.* COVID-19 diagnostic methods and detection techniques. **Encyclopedia of sensors and biosensors**, [s. l.], p. 17, 2023.

ROSANO, Giuseppe *et al.* COVID-19 vaccination in patients with heart failure: a position paper of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. **European journal of heart failure**, [s. l.], v. 23, n. 11, p. 1806-1818, 2021.

SABINO, Ester C. *et al.* Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence. **The Lancet**, [s. l.], v. 397, n. 10273, p. 452-455, 2021.

SADOFF, Jerald *et al.* Interim results of a phase 1–2a trial of Ad26. COV2. S Covid-19 vaccine. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 384, n. 19, p. 1824-1835, 2021.

SALAMEA-MOLINA, Juan Carlos *et al.* Whole blood for blood loss: hemostatic resuscitation in damage control. **Colombia Médica**, [s. l.], v. 51, n. 4, 2020.

SARIOL, Alan; PERLMAN, Stanley. Lessons for COVID-19 immunity from other coronavirus infections. **Immunity**, [s. l.], v. 53, n. 2, p. 248-263, 2020.

SARIS, N. E. Revised IFCC method for aspartate aminotransferase. **Clin. Chem.**, [s. l.], v. 24, p. 720-721, 1978.

SCHUBERT, Katharina *et al.* SC2 Nsp1 binds the ribosomal mRNA channel to inhibit translation. **Nature structural & molecular biology**, [s. l.], v. 27, n. 10, p. 959-966, 2020.

SENEFF, Stephanie; NIGH, Greg. Worse than the disease? Reviewing some possible unintended consequences of the mRNA vaccines against COVID-19. **International Journal of Vaccine Theory, Practice, and Research**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 38-79, 2021.

SECRETARIA DA SAÚDE. **Integrasus**, [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em: IntegraSUS - Home ([saude.ce.gov.br](http://saude.ce.gov.br)). Acesso em: 01 jun. 2024

SIGLER, Thomas et al. The socio-spatial determinants of COVID-19 diffusion: the impact of globalisation, settlement characteristics and population. **Globalization and health**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 56, 2021.

SINO BIOLOGICAL. **Interleukin Function / Function of Interleukin**, 2024. Disponível em: Interleukin Function / Function of Interleukin | Sino Biological. Acesso em 01 jun. 2024.

SIVAPALAN, Pradeesh *et al.* Azithromycin and hydroxychloroquine in hospitalised patients 107 with confirmed COVID-19: a randomised double-blinded placebo-controlled trial. **European Respiratory Journal**, [s. l.], v. 59, n. 1, 2022

SOUSA JÚNIOR, Joaquim César do Nascimento. **Soroprevalência Serial de IgG Anti-SC2 em Doadores de Sangue como Parâmetro de Avaliação Epidemiológica da COVID-19 em Fortaleza**, [s. l.], 2021.

SPIEGEL, Martin *et al.* Interaction of severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus with dendritic cells. **Journal of general virology**, [s. l.], v. 87, n. 7, p. 1953-1960, 2006.

STARR, Tyler N. *et al.* Deep mutational scanning of SC2 receptor binding domain reveals constraints on folding and ACE2 binding. **cell**, [s. l.], v. 182, n. 5, p. 1295-1310. e20, 2020.

SU, Yapeng *et al.* Multiple early factors anticipate post-acute COVID-19 sequelae. **Cell**, [s. l.], v. 185, n. 5, p. 881-895. e20, 2022.

SULLIVAN, Adam et al. Antibody titer levels and the effect on subsequent SC2 infection in a large US-based cohort. **Heliyon**, [s. l.], v. 9, n. 2, 2023.

TANAKA, Toshio; NARAZAKI, Masashi; KISHIMOTO, Tadimitsu. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. **Cold Spring Harbor perspectives in biology**, [s. l.], v. 6, n. 10, p. a016295, 2014.

TANG, Tiffany *et al.* Proteolytic activation of SC2 spike at the S1/S2 boundary: potential role of proteases beyond furin. **ACS Infectious Diseases**, [s. l.], v. 7, n. 2, p. 264-272, 2021.

TANG, Yuanji *et al.* Epidemiology of COVID-19 in Brazil: using a mathematical model to estimate the outbreak peak and temporal evolution. **Emerging microbes & infections**, [s. l.], v. 9, n. 1, p. 1453-1456, 2020.

TEYMOURI, Manoucher *et al.* Recent advances and challenges of RT-PCR tests for the diagnosis of COVID-19. **Pathology-Research and Practice**, [s. l.], v. 221, p. 153443, 2021.

THOMPSON, Mark G. Interim estimates of vaccine effectiveness of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccines in preventing SARS-CoV-2 infection among health care personnel, first responders, and other essential and frontline workers—eight US locations, December 2020–March 2021. **MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report**, [s. l.], v. 70, 2021.

TIAN, Dandan et al. The emergence and epidemic characteristics of the highly mutated SARS-CoV-2 Omicron variant. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 94, n. 6, p. 2376-2383, 2022.

TOSTA, Stephane *et al.* Early genomic detection of SC2 P. 1 variant in Northeast Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, [s. l.], v. 15, n. 7, p. e0009591, 2021.

TSAI, Emily J.; ČIHÁKOVÁ, Daniela; TUCKER, Nathan R. Cell-specific mechanisms in the heart of COVID-19 patients. **Circulation research**, [s. l.], v. 132, n. 10, p. 1290-1301, 2023.

V'KOVSKI, Philip *et al.* Coronavirus biology and replication: implications for SC2. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 155-170, 2021.

VAN WAMBEKE, Erika *et al.* Two-years follow-up of symptoms and return to work in complex post-COVID-19 patients. **Journal of clinical medicine**, [s. l.], v. 12, n. 3, p. 741, 2023.

VANDENBERG, Olivier *et al.* Considerations for diagnostic COVID-19 tests. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 19, n. 3, p. 171-183, 2021.

VIANA, Raquel *et al.* Rapid epidemic expansion of the SC2 Omicron variant in southern Africa. **Nature**, [s. l.], v. 603, n. 7902, p. 679-686, 2022.

VILLARREAL, Raul; CASALE, Thomas B. Commonly used adjuvant human vaccines: advantages and side effects. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice**, [s. l.], v. 8, n. 9, p. 2953-2957, 2020.

WACHARAPLUESADEE, Supaporn *et al.* Evidence for SC2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. **Nature communications**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 972, 2021.

WALZ, Lucas *et al.* JAK-inhibitor and type I interferon ability to produce favorable clinical outcomes in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. **BMC infectious diseases**, [s. l.], v. 21, p. 1-10, 2021.

WANG, Dawei *et al.* Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus–infected pneumonia in Wuhan, China. **jama**, [s. l.], v. 323, n. 11, p. 1061-1069, 2020.

WANG, Shen *et al.* Viral vectored vaccines: design, development, preventive and therapeutic applications in human diseases. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, [s. l.], v. 8, n. 1, p. 149, 2023.

WANG, Wen-Hung *et al.* Targets and strategies for vaccine development against dengue viruses. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s. l.], v. 144, p. 112304, 2021.

WEI, Zhi-Yao *et al.* The influence of pre-existing hypertension on coronavirus disease 2019 patients. **Epidemiology & Infection**, [s. l.], v. 149, p. e4, 2021.

WHO: **Disease Outbreak News: Update 24 February 2020**, [S. l.], 2020.

WHO. **WHO announces simple easy-to-say labels for SC2 Variantes of Interest and Concern**, [S. l.: s. n.], 2021. Disponível em: WHO announces simple, easy-to-say labels for SC2 Variants of Interest and Concern. Acesso em: 11 jan. 2024.

WHO. **WHO Timeline—COVID-19**, [S. l.], 2022.

WHO; PAHO. Latin America and the Caribbean approaching half-way mark toward goal of 100% voluntary blood donation. **Pan American Health Organization** [S. l.], 2016.

WIERSINGA, W. Joost *et al.* Pathophysiology, transmission, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19): a review. **Jama**, [s. l.], v. 324, n. 8, p. 782-793, 2020.

WINTER, Kezia Estela Finger *et al.* Motivos de inaptidão de candidatos à doação de sangue do Brasil: uma revisão narrativa. **Revista Eletrônica Acervo Enfermagem**, [s. l.], v. 20, p. e11283-e11283, 2022.

WISE, Jacqui. Covid-19: Antiviral purchased by UK government does not lower risk of hospital admission, trial shows. **BMJ: British Medical Journal (Online)**, [s. l.], v. 379, p. o2441, 2022.

WISE, Jacqui. Covid-19: WHO declares end of global health emergency. **BMJ: British Medical Journal (Online)**, [s. l.] 2023.

WOLFE, Nathan D.; DUNAVAN, Claire Panosian; DIAMOND, Jared. Origins of major human infectious diseases. **Nature**, [s. l.], v. 447, n. 7142, p. 279-283, 2007.

WU, Zhenchao *et al.* Remdesivir in treating hospitalized patients with COVID-19: A renewed review of clinical trials. **Frontiers in pharmacology**, [s. l.], v. 13, p. 971890, 2022.

XU, Chuanqing et al. A study on the transmission dynamics of COVID-19 considering the impact of asymptomatic infection. **Journal of Biological Dynamics**, [s. l.], v. 17, n. 1, p. 2244980, 2023.

YAMASOBA, Daichi *et al.* Virological characteristics of the SC2 Omicron BA. 2 spike. **Cell**, [s. l.], v. 185, n. 12, p. 2103-2115. e19, 2022.

YAN, Wu et al. Differences of blood cells, lymphocyte subsets and cytokines in COVID-19 patients with different clinical stages: a network meta-analysis. **BMC infectious diseases**, [s. l.], v. 21, p. 1-9, 2021.

YANG, Li et al. COVID-19: immunopathogenesis and Immunotherapeutics. **Signal transduction and targeted therapy**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 128, 2020.

YAO, H. *et al.* Molecular architecture of the SC2 virus. **Cell**, [s. l.], v. 183, n. 3, p. 730-738, 2020.

YOSHIDA, Masahiro *et al.* Local and systemic responses to SC2 infection in children and adults. **Nature**, [s. l.], v. 602, n. 7896, p. 321-327, 2022.

YURKOVETSKIY, Leonid *et al.* Structural and functional analysis of the D614G SC2 spike protein variant. **Cell**, [s. l.], v. 183, n. 3, p. 739-751. e8, 2020.

ZHANG, Gemin *et al.* Analysis of clinical characteristics and laboratory findings of 95 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a retrospective analysis. **Respiratory research**, [s. l.], v. 21, n. 1, p. 1-10, 2020.

ZHANG, Hong-liang *et al.* Evaluation of immunogenicity of gene-deleted and subunit vaccines constructed against the emerging pseudorabies virus variants. **Virology Journal**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1-13, 2023.

ZHAO, Huaying *et al.* A conserved oligomerization domain in the disordered linker of coronavirus nucleocapsid proteins. **Science Advances**, [s. l.], v. 9, n. 14, p. eadg6473, 2023.

ZHENG, Caifang *et al.* Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, [s. l.], v. 114, p. 252-260, 2022.

ZHENG, Jun. SC2: an emerging coronavirus that causes a global threat. **International journal of biological sciences**, [s. l.], v. 16, n. 10, p. 1678, 2020.

ZHOU, Huan *et al.* A review of SARS-CoV2: compared with SARS-CoV and MERS-CoV. **Frontiers in medicine**, [s. l.], v. 8, p. 628370, 2021.

ZHOU, Peng *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **nature**, [s. l.], v. 579, n. 7798, p. 270-273, 2020.

ZHOU, Yongbing; ZHI, Huilin; TENG, Yong. The outbreak of SARS-CoV-2 Omicron lineages, immune escape, and vaccine effectivity. **Journal of medical virology**, [s. l.], v. 95, n. 1, p. e28138, 2023.

ZHU, Na *et al.* A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England journal of medicine**, [s. l.], v. 382, n. 8, p. 727-733, 2020.

ZHU, Ying; SHARMA, Lokesh; CHANG, De. Pathophysiology and clinical management of coronavirus disease (COVID-19): a mini-review. **Frontiers in Immunology**, [s. l.], v. 14, 2023.

ZUBCHENKO, Svitlana *et al.* Herpesvirus infections and post-COVID-19 manifestations: a pilot observational study. **Rheumatology International**, [s. l.], v. 42, n. 9, p. 1523-1530, 2022.

## APÊNDICE A – PARECER CONSUBSTANCIADO DO CONSELHO DE ÉTICA EM PESQUISA DO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ

CENTRO DE HEMATOLOGIA E  
HEMOTERAPIA DO CEARÁ -  
HEMOCE



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DA EMENDA

**Título da Pesquisa:** BIOSSEGURANÇA DO SANGUE E COMPONENTES, INOVAÇÃO EM SAÚDE NO CEARÁ - ESTUDO BIOSCIENCE

**Pesquisador:** Fabio Miyajima

**Área Temática:**

**Versão:** 3

**CAAE:** 22873219.0.0000.8152

**Instituição Proponente:** SECRETARIA DA SAUDE DO ESTADO DO CEARA

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.345.218

#### Apresentação do Projeto:

O projeto pretende aprimorar a vigilância e biossegurança da transfusão de sangue e hemocomponentes frente às infecções potencialmente transmissíveis pelo sangue. Assim, os avanços tecnológicos têm provocado a mostra de técnicas, modelos e estratégias dinâmicas no contexto dos serviços em bancos de sangue. Desse modo, além do protocolo normativo relacionado à doação de sangue, incluindo avaliação

## APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – TCLE



CÓDIGO:	
---------	--

VIA DO PARTICIPANTE

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) Doadores de Sangue

Título abreviado da Pesquisa: BIOsegurança do Sangue e Componentes, Inovação Em Saúde No Ceará (Estudo BIOSCIENCE)

**Nome da Pesquisa: “Biossegurança da transfusão de sangue e hemocomponentes e vigilância laboratorial de doenças transmissíveis na Hemorrede do Ceará: Implementação de abordagens translacionais e determinação geográfica e sazonal”**

**Pesquisadores responsáveis:** Luciana Maria de Barros Carlos, Franklin Cândido Santos e Fábio Miyajima

Prezado (a), Gostaríamos de convidá-lo(a) a participar deste projeto de pesquisa. Esse convite está sendo feito aos doadores de sangue do HEMOCE.

A participação é **voluntária**. Para participar, é necessário ler atentamente este documento e ouvir nossas explicações, em caso de dúvidas. Se tiver interesse em participar, solicitaremos que assine este documento.

#### **Por que essa pesquisa está sendo feita?**

O Brasil tem se deparado com sucessivas epidemias de doenças como arbovirus (dengue, zika, chikungunya) e vírus respiratórios (H1N1 e COVID-19). Além disso, outras doenças que podem ser transmitidas pelo sangue como sífilis, HTLV, CMV, doença de Chagas e leishmaniose visceral, também chamada de calazar, são muito frequentes em nosso meio em que as pessoas frequentemente não apresentam nenhum sintoma.

Este trabalho tem como objetivo verificar a frequência dessas doenças em nossos doadores de sangue, receptores e trabalhadores da saúde, descobrir se o sangue transfundido pode causar riscos aos pacientes, entender a efetividade e os custos de medidas de intervenção adotadas, propor soluções tecnológicas e de inovação para o sistema de saúde.

#### **Como será feita essa pesquisa?**

**Após ter concordado em participar do estudo e ter assinado este termo de consentimento, aplicaremos questionários de pesquisa e coletaremos uma pequena quantidade de amostra de sangue de sua veia juntamente com a coleta do sangue para doação.**

Inicialmente serão coletados até 6 mL a mais do seu sangue (um pouco mais que 1 colher de chá) para a realização de testes laboratoriais para o estudo, incluindo hemograma, análises sorológicas e de material genético humano e de patógenos (e que poderiam facilitar a infecção por esses patógenos).

Amostras e materiais oriundos dos testes laboratoriais de rotina, ou da sua doação que não forem aproveitados pelo Hemoce, poderão constituir em arquivo de amostras e material de pesquisa para o desenvolvimento de novos testes ou aprimoramento dos

existentes a partir de: marcadores biológicos (infecciosos, inflamatórios, hormonais, genéticos), nutricionais

(vitaminas, minerais e outros) e de medicamentos, a depender de disponibilidade de recursos. Esta iniciativa também permitirá a construção do perfil epidemiológico e molecular de doadores, bem como no entendimento da diversidade biológica de nossa população e variações entre indivíduos. Outras amostras, contudo, poderão ser solicitadas se requeridas para fins de vigilância e monitoramento de doenças, incluindo sangue, swab nasal e/ou saliva, por exemplo para exames de COVID-19.

#### **Quanto tempo durará a pesquisa?**

A pesquisa será concluída em 4 anos a partir da data de início, podendo ser estendida desde que autorizado pelo comitê de ética em pesquisa designado. Em alguns casos, nossa equipe poderá lhe contatar para coletar informações acompanhamento e convidar para coleta de amostras de pesquisa, inclusive para o aprimorarmos de testes que estamos desenvolvendo. **Garantimos que durante esse período e após a conclusão dos trabalhos da pesquisa, você será devidamente acompanhado(a). Também, durante esse período, será prestada informação atualizada sobre o estudo, mesmo que essa possa afetar a sua vontade de continuar dele participando.**

#### **Quais os riscos e inconvenientes que podem ocorrer?**

Os riscos que podem ocorrer são relacionados à doação de sangue, como dor no local da punção e extravasamento de pequena quantidade de sangue que pode aparecer como uma mancha roxa. Não há outros riscos em participar do estudo.

### **O que acontece se não aceitar participar?**

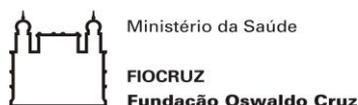
Caso não queira participar, você poderá continuar doando sangue normalmente e ajudando a salvar vidas. **Também tem a liberdade de retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo a qualquer momento. Asseguramos que qualquer amostra utilizada neste projeto será codificada (ou seja, anonimizada) de forma tal que não haverá nomes ou dados pessoais que possam levar à sua identidade. As informações obtidas são confidenciais, ou seja, sua identidade será mantida em sigilo, inclusive nas publicações dos resultados. Todas as informações obtidas são confidenciais, ou seja, os nomes dos participantes não serão divulgados em nenhum momento e sua identidade será mantida em sigilo, inclusive nas publicações dos resultados.**

### **Haverá alguma despesa para mim nesse estudo?**

A sua participação é importante e não lhe acarretará despesas pessoais, não havendo também qualquer tipo de compensação financeira

### **Terei benefícios ao participar do estudo?**

Você não terá nenhum ganho em dinheiro. Você poderá ter benefício direto com este estudo, se for diagnosticado com alguma doença infecciosa, já que será encaminhado para acompanhamento clínico e realização de outros exames e, se necessário, para tratamento. Poderá também haver benefícios para todos os pacientes transfundidos ao nos auxiliar a entender melhor essas doenças e o risco de transmissão pela transfusão de sangue e no ambiente de trabalho (Hemocentros e centros de coleta). ***Você tem a garantia de receber a resposta a qualquer pergunta ou esclarecer dúvidas durante a realização do estudo.***



Qualquer dúvida sobre essa pesquisa, entrar em contato com **Juliana Bezerra Frota** [juliana.bezerra@hemoce.ce.gov.br](mailto:juliana.bezerra@hemoce.ce.gov.br), (Coordenação de Hemovigilância), pelo telefone (85) 3101-2289 ou com **Veridiana Pessoa Miyajima** pelo telefone (85) 3101-2297. Se você tiver alguma consideração ou dúvida, sobre a sua participação na pesquisa, entre em contato com a secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa do HEMOCE pelo telefone (85) 3101-2301, email: [cep@hemoce.ce.gov.br](mailto:cep@hemoce.ce.gov.br) (de 2ª a 6ª feira durante horário comercial).

As informações contidas neste TCLE estão de acordo com as normas éticas destinadas à pesquisa envolvendo seres humanos da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) do Ministério da Saúde.

### **Para o(a) PARTICIPANTE:**

Você entendeu se sente perfeitamente esclarecido(a) quanto aos objetivos e importância desta pesquisa?

Sim  Não

Você entendeu e se sente perfeitamente esclarecido(a) sobre como será sua participação na pesquisa?

Sim  Não

Você concorda que os resultados dos testes laboratoriais, bem como informações coletadas como parte dos procedimentos de doação de sangue possam ser utilizadas para fins de pesquisa?

Sim  Não

Você concorda em receber mensagens ocasionais para comunicação com a equipe ou alertando sobre a importância de comunicar à equipe o surgimento dos sintomas sugestivos de infecções testados por esta pesquisa?

Sim  Não

Você concorda com a coleta de sangue e outras amostras, assim como utilização daquelas que não serão aproveitadas para doação possam ser utilizadas para análises laboratoriais desta pesquisa?

Sim  Não

Você autoriza o armazenamento das amostras coletadas para futuras análises de marcadores biológicos, nutricionais e de medicamentos de importância para esta pesquisa e para o entendimento de variações entre indivíduo e da diversidade biológica de nossa população?

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) – VERSÃO IMPRESSA E ELETRÔNICA**

**ESTUDO BIOSCIENCE: Biossegurança do Sangue e Componentes, Inovação em Saúde no Ceará**

128

Sim  Não

Confirmando ter recebido cópia assinada deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Nome do Participante: \_\_\_\_\_

Assinatura do **Participante**: \_\_\_\_\_

**Data**: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Assinatura do **Pesquisador**: \_\_\_\_\_