



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

JOÃO ALVES GONÇALVES NETO

**PERFIL DE CÉLULAS T E B E CITOCINAS PRÓ E ANTI-INFLAMATÓRIAS
ANTES E PÓS-VACINAÇÃO PARA COVID-19 EM PROFISSIONAIS DE SAÚDE
DO ESTADO DE PERNAMBUCO**

RECIFE

2024

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

JOÃO ALVES GONÇALVES NETO

**PERFIL DE CÉLULAS T E B E CITOCINAS PRÓ E ANTI-INFLAMATÓRIAS
ANTES E PÓS-VACINAÇÃO PARA COVID-19 EM PROFISSIONAIS DE SAÚDE
DO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Michelly Pereira
Coorientador(a): Dr. Rômulo Pessoa e Silva

RECIFE

2024

Catálogo na Fonte
Bibliotecário: Marcos Antonio Soares da Silva
CRB4/1381

Gonçalves Neto, João Alves

Perfil de células T e B e citocinas pró e anti-inflamatórias antes e pós- vacinação para Covid -19 em profissionais de saúde do Estado de Pernambuco. / João Alves Gonçalves Neto. – 2024.

91 f. : il., fig.; tab.

Orientadora: Michelly Pereira.
Coorientador: Rômulo Pessoa e Silva.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, 2024.

Inclui referências e anexos.

1. SARS-CoV-2. 2. Vacinação. 3. Resposta imunológica. 4. Vacinas contra COVID-19. 5. Memória imunológica. 6. Profissionais de saúde. I. Pereira, Michelly (Orient.). II. Silva, Rômulo Pessoa e (Coorient.). III. Título.

616

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2024-184

JOÃO ALVES GONÇALVES NETO

**PERFIL DE CÉLULAS T E B E CITOCINAS PRÓ E ANTI-INFLAMATÓRIAS
ANTES E PÓS-VACINAÇÃO PARA COVID-19 EM PROFISSIONAIS DE SAÚDE
DO ESTADO DE PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Biociências, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovado em: 08/03/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Profa. Michelly Cristiny Pereira (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Prof. Dr^a. Maria Danielly Lima de Oliveira (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Dr. Anderson Rodrigues de Almeida (Examinador Externo)
Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Dr^a. Priscilla Stela Santana de Oliveira (Examinadora Interna)
Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste – CETENE

Dedicado a Emília Luíza e Antônio João.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, pela oportunidade e pela possibilidade de construir esta pesquisa, que culminou nesta dissertação. Expresso minha gratidão ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, que me acolheu durante os últimos dois anos e proporcionou a base para o desenvolvimento deste trabalho.

A Eduardo Davi, Heloísa Leão e Anderson Félix, que me receberam de braços abertos, guiaram-me e foram mais do que simples colegas nesta jornada de aprendizado e descobertas. Agradeço também a Bárbara Oliveira e Érika Menezes, cujo apoio foi constante desde o início até o fim deste trabalho, em nossas muitas conversas, conselhos e momentos compartilhados. Agradeço a Rômulo Pessoa, que gentilmente se dispôs a coorientar este trabalho e foi além de suas obrigações.

Agradeço especialmente à minha orientadora, Prof^ª Michelly Pereira, por sua acolhida calorosa e paciência incansável. Ela é, sem dúvidas, um exemplo de humanidade, ética e orientação. Expresso também minha gratidão aos professores Moacyr Rêgo e Maíra Pitta pelo apoio e pelas valiosas contribuições ao longo do processo.

Ao Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino, que viabilizou tecnicamente este trabalho, e a todos os que, diariamente, se dedicam a manter este importante núcleo de pesquisa.

À Universidade Federal de Pernambuco, minha casa ao longo dos últimos oito anos, que mudou meu mundo ao longo dessa jornada acadêmica.

Agradeço também à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco (FACEPE) pelo fomento e pela bolsa de estudos que tornaram possível o início e a conclusão deste trabalho.

Aos meus companheiros queridos, fonte constante de amor, apoio, escuta e resiliência ao longo dos anos - Thales, Clara, Beatriz, Nayara e Nilton - e a todos os outros que sempre estiveram ao meu lado.

À minha família, em especial à minha irmã Juliana, meu tesouro e apoio constante, e aos meus pais, Emília Luiza e Antônio João, a base de tudo que faço, que sonham os meus sonhos e são a fonte de força em minha jornada.

Por fim, expresso minha gratidão à Força Criadora e Motriz, fonte inesgotável de vida, à qual dedico minha fé, por me manter firme, são e forte até este dia.

Muito obrigado!

"Valeu a pena? Tudo vale a pena
Se a alma não é pequena.
Quem quer passar além do Bojador
Tem que passar além da dor.
Deus ao mar o perigo e o abismo deu,
Mas nele é que espelhou o céu."
Fernando Pessoa

Nota: Trecho do poema "Mar Português" da Mensagem, de Fernando Pessoa.

RESUMO

Avaliações imunológicas e o acompanhamento de vacinados contra o SARS-CoV-2 são fundamentais para otimizar estratégias de imunização, especialmente entre profissionais de saúde. Este estudo teve como objetivo avaliar o perfil imunológico de profissionais de saúde vacinados em Pernambuco, com foco em linfócitos T/B e citocinas pró e anti-inflamatórias ao longo de um ano. Foram recrutados 23 participantes, e amostras de sangue total e plasma foram coletadas em seis momentos: T0 (antes da primeira dose da vacina), T1 (21 dias após a primeira dose), T2 (15 dias após a segunda dose), T3 (seis meses após a segunda dose), T4 (15 dias após a terceira dose) e T5 (15 dias após a quarta dose). A infecção prévia pelo SARS-CoV-2 foi investigada em T0 por ELISA (anti-IgG e IgM). Linfócitos totais, TCD3, TCD4 e linfócitos B foram analisados por citometria de fluxo, enquanto as citocinas IL-6, IL-10 e INF- γ foram dosadas em T0, T2 e T5. Os resultados mostraram que 25% dos voluntários apresentavam infecção prévia em T0. Houve uma redução significativa dos linfócitos totais em T3 ($p = 0,0003$) em comparação com T0, seguida de um aumento após as doses de reforço, observado em T5. Linfócitos T CD3+ também mostraram uma redução significativa em T3 ($p < 0,0001$), enquanto linfócitos T CD4+ aumentaram significativamente em T5 em relação a T4 ($p = 0,0089$). Os linfócitos B mostraram um aumento gradual entre T0 e T5 ($p = 0,0050$). Não foram observadas diferenças significativas nas citocinas analisadas ao longo dos tempos, apesar das variações individuais. Em conclusão, o estudo revela que a vacinação contra a COVID-19 induz alterações importantes no perfil imunológico, particularmente em linfócitos, reforçando a necessidade de políticas contínuas de vacinação para profissionais de saúde. Esses achados contribuem para a compreensão da resposta imunológica a longo prazo à vacinação e fornecem conhecimentos importantes para aprimorar estratégias de imunização em indivíduos na linha de frente do combate à pandemia.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; Vacinação; Resposta imunológica; Vacinas contra COVID-19; Memória imunológica, profissionais de saúde.

ABSTRACT

Immunological evaluations and the follow-up of individuals vaccinated against SARS-CoV-2 are crucial for optimizing immunization strategies, especially among healthcare professionals. This study aimed to assess the immunological profile of vaccinated healthcare professionals in Pernambuco, focusing on T/B lymphocytes and pro- and anti-inflammatory cytokines over the course of one year. A total of 23 participants were recruited, and blood and plasma samples were collected at six time points: T0 (before the first vaccine dose), T1 (21 days after the first dose), T2 (15 days after the second dose), T3 (six months after the second dose), T4 (15 days after the third dose), and T5 (15 days after the fourth dose). Previous SARS-CoV-2 infection was investigated at T0 using ELISA (anti-IgG and IgM). Total lymphocytes, TCD3, TCD4, and B lymphocytes were analyzed by flow cytometry, while cytokines IL-6, IL-10, and IFN- γ were measured at T0, T2, and T5. Results showed that 25% of the volunteers had a prior SARS-CoV-2 infection at T0. There was a significant reduction in total lymphocytes at T3 ($p = 0.0003$) compared to T0, followed by an increase after booster doses, observed at T5. T CD3+ lymphocytes also showed a significant reduction at T3 ($p < 0.0001$), while T CD4+ lymphocytes significantly increased at T5 compared to T4 ($p = 0.0089$). B lymphocytes showed a gradual increase between T0 and T5 ($p = 0.0050$). No significant differences were observed in the cytokines analyzed over time, despite individual variations. In conclusion, the study reveals that COVID-19 vaccination induces significant changes in the immunological profile, particularly in lymphocytes, highlighting the need for continuous vaccination policies for healthcare professionals. These findings contribute to the understanding of the long-term immunological response to vaccination and provide important insights for improving immunization strategies for individuals on the front lines of the pandemic response.

Keywords: SARS-CoV-2; Vaccination; Immune response; COVID-19 vaccines; Immune memory; Healthcare professionals.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Distribuição espacial e estratificação do número de casos de COVID-19 no mundo.	16
Figura 2 -	Casos novos (Incidência) de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação no Brasil de 2020 a 2023	17
Figura 3 -	Número de óbitos no Brasil por semana epidemiológica de 2020 a 2023	17
Figura 4 -	Origem dos Coronavírus. Hospedeiro original e hospedeiros intermediários.	21
Figura 5 -	Esquema da estrutura viral do SARS-CoV-2	24
Figura 6 -	Linha do Tempo da Pandemia e as variantes do SARS-CoV-2	25
Figura 7 -	Interação do SARS-CoV-2 na célula humana	26
Figura 8 -	Esquematização da resposta imune a partir da infecção pelo SARS-CoV-2.	31
Figura 9 -	Resumo das características do isótopo de anticorpos e uma linha do tempo aproximada desde a infecção pelo SARS-CoV-2 até a possível imunidade.	34
Figura 10 -	Fluxograma de captação, acompanhamento dos participantes e coletas de acordo com o período pós-vacinação.	49
Figura 11 -	Porcentagem De Testagem Para Sorologia IgG Anti SARS-CoV-2.	55
Figura 12 -	Varição de percentual de Linfócitos Totais em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.	56
Figura 13 -	Varição de percentual de Linfócitos CD3+ em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.	57

Figura 14 -	Varição de percentual de Linfócitos CD4+ em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.	58
Figura 15 -	Varição de percentual de Linfócitos Totais em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.	59
Figura 16 -	Análise das Interleucinas Il-6, IFNy e IL-10.	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Dados Sociodemográficos, Clínicos e Laboratoriais

54

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Sintomas gerais da COVID-19, Fatores de Risco, Complicações e Comorbidades.	27
Quadro 2 -	Citocinas Envolvidas na Infecção por SARS-CoV-2.	29
Quadro 3 -	Plataforma de vacinas aprovadas em pelo menos um país.	36
Quadro 4 -	Principais vacinas aprovadas contra a COVID-19 e suas plataformas de desenvolvimento, riscos e desvantagens.	37
Quadro 5 -	Painel citoflorimétrico utilizado na imunofetipagem por citometria de fluxo.	51

LISTA DE ABREVIACOES

ACE-2	Enzima Conversora de Angiotensina
COVID-19	Doença do Coronavirus 2019
CoVs	Coronavírus
CS	Tempestade de Citocinas
DNA	cido Desoxirribonucleico
HCoV	Coronavírus Humano
IFNy	Interferon gama
MERS-CoV	Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio
mRNA	cido Ribonucleico Mensageiro
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
ORF	Fase de Leitura Aberta
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV	Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SARS-CoV2	Coronavírus-2 da Síndrome Respiratória Aguda Grave
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TMPRSS2	Enzima Protease Serina Transmembranar 2
TNF	Fator de Necrose Tumoral
WHO (OMS)	Organização Mundial da Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Epidemiologia da COVID-19.....	17
2.2 Estrutura do SARS-CoV-2:	23
2.3 Variantes	26
2.4 Fisiopatologia da COVID-19	27
2.5 Desenvolvimento de vacinas contra o SARS-CoV-2.....	37
2.6 Plataformas atuais de vacinas contra a COVID-19.....	39
2.7 Profissionais da saúde como grupo prioritário para a vacinação precoce contra a COVID-19.	45
3 OBJETIVOS	48
3.1 Objetivo geral.....	48
3.2 Objetivos específicos.....	48
4 METODOLOGIA.....	49
4.1 Desenho do estudo e amostragem	49
4.2 Local e período do estudo	49
4.3 Critérios de elegibilidade	49
4.4 Procedimento para captação e acompanhamento dos participantes.....	49
4.5 Coleta de Dados Sociodemográficos:	50
4.6 Aspectos éticos	50
4.7 Técnicas de coleta e testes laboratoriais	50
5 RESULTADOS	54
5.1 Dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais.....	54
5.2 Análise do IgG anti-SARS-COV-2:	55
5.3 Análise dos Linfócitos por Citometria de Fluxo	56
5.4 Análise das Interleucinas IL-6, INFγ e IL-10.	60
6 DISCUSSÃO	55
7 CONCLUSÃO.....	67
8 REFERÊNCIAS	68
ANEXOS.....	79
Formulário usado na pesquisa.....	79
Parecer do Conselho de Ética em Pesquisa.....	86

1 INTRODUÇÃO

Em janeiro de 2020, a OMS declarou instalada a pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, após o surto em Wuhan, China (Mollarasouli, 2022). Os coronavírus são uma família de vírus de RNA de fita simples que podem infectar tanto seres humanos quanto animais, ou seja, uma antropozoonose. Sendo o SARS-CoV-2 classificado como um betacoronavírus com um genoma de RNA de fita simples positiva (RNA+) (Li B, 2020). Até setembro de 2023, a OMS relatou mais de 770 milhões de casos confirmados e quase 7 milhões de mortes decorrentes da infecção com o SARS-CoV-2 (OMS, 2023).

A rápida disseminação do vírus para 25 países, apenas um mês após o anúncio do primeiro caso em dezembro de 2019, levou a uma situação de pandemia global. A capacidade de infectar diferentes espécies e a alta plasticidade genômica dos coronavírus aumentam a possibilidade de mutações e recombinações genéticas, o que facilita a transmissão entre diferentes espécies (Ji W, 2020).

A infecção das células humanas pelo SARS-CoV-2 ocorre através da ligação do domínio de ligação do receptor da proteína *Spike* (*S*) com a Proteína Enzima Conversora da Angiotensina 2 (ACE2) na superfície da célula hospedeira, desencadeando o processo de entrada do vírus. Uma vez dentro da célula hospedeira, o vírus replica seu genoma de RNA (Deb; Shah; Goel, 2020; V'kovski et al, 2020).

A transmissão da COVID-19 ocorre principalmente de pessoa para pessoa através de gotículas geradas durante fala, espirro ou tosse. Os sintomas variam de leves, como tosse e febre, a casos graves de síndrome respiratória aguda. Os grupos de maior risco incluem indivíduos com doenças cardíacas, respiratórias, diabetes e os profissionais de saúde que estavam diretamente relacionados ao controle da pandemia (Feng He, et al 2020).

A pandemia de COVID-19 impôs desafios significativos aos profissionais de saúde em todo o mundo. Uma meta-análise revelou que, em 2020, a prevalência estimada de infecção por SARS-CoV-2 entre esses profissionais, avaliada por meio de teste de PCR e detecção de anticorpos, foi de 11% (IC 95%, 7%-15%) e 7% (IC 95%, 4%-11%), respectivamente (Gómez-Ochoa, 2021; Bitencourt, 2023).

Existem, até o momento, tratamentos usados para a COVID-19, como terapias clínicas, medicamentos e as várias vacinas. As vacinas têm desempenhado um papel crucial na prevenção de doenças graves e na redução da propagação do vírus. Atualmente, há dez vacinas contra a COVID-19 aprovadas pela Organização Mundial da Saúde (OMS) para uso global, o

que inclui vacinas baseadas em diferentes plataformas, como vírus inativados, mRNA, vetores de adenovírus e proteínas adjuvantes (Barouch, 2022).

No entanto, compreender os efeitos das vacinas no sistema imunológico humano e a eficácia das políticas de incentivo à vacinação é fundamental para combater a disseminação da COVID-19 em todo o mundo. Além disso, é de interesse global esclarecer como a população de profissionais da linha de frente do combate ao SARS-CoV-2 responderam à vacinação precoce, da resposta imune aos efeitos adversos.

No contexto de um desafio global sem precedentes, a vacinação emergiu como uma peça-chave na busca pelo controle efetivo da pandemia. Este trabalho se propõe a realizar uma avaliação do perfil imunológico dos linfócitos T/B e de citocinas pró- e anti-inflamatórias em amostras de sangue total de profissionais de um laboratório de testagem do Estado de Pernambuco, antes e após a vacinação contra a COVID-19. Essa análise oferece uma caracterização da resposta imune através da análise das células T e B, citocinas e a imunoglobulina G, de voluntários que estavam incluídos na linha de frente do combate a pandemia. Como também a investigação de eventuais efeitos adversos, proporcionando uma visão por outro ângulo dos efeitos da vacina no organismo humano, o que pode contribuir para um entendimento dos potenciais efeitos da imunização a longo prazo.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia da COVID-19

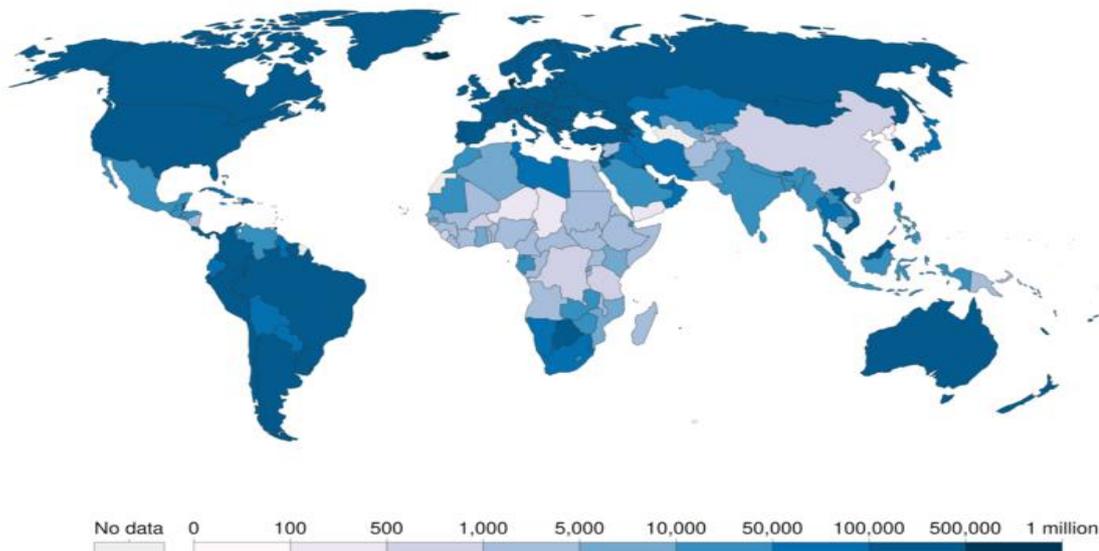
2.1.1 Propagação global e surto

Os primeiros registros da COVID-19 datam de dezembro de 2019. Entre 18 de dezembro e 29 de dezembro de 2019, ocorreram cinco internações de pacientes com síndrome do desconforto respiratório agudo, e um desses pacientes veio a óbito. Até 2 de janeiro de 2020, um total de 41 pacientes hospitalizados tiveram sua infecção por COVID-19 confirmada por meio de testes laboratoriais (Rothan, 2020).

Menos de um mês após a confirmação dos primeiros casos de COVID-19, alguns países vizinhos da China, Europa e América do Norte relataram seus primeiros casos. Na medida em que o número de casos começou a crescer de forma exponencial, ficou claro que o vírus estava se disseminando rapidamente por meio da transmissão entre pessoas (Kriz et al., 2021).

Em abril de 2020, o total de casos de COVID-19 ultrapassou a marca de 1 milhão. Em 25 de setembro de 2020, o número de óbitos atingia a marca de 1 milhão. Até 22 de dezembro de 2020, casos de COVID-19 haviam sido relatados nos sete continentes. Em 4 de fevereiro de 2021, mais de 103 milhões de casos confirmados e mais de 2 milhões de mortes foram registrados. Em 14 de janeiro de 2024, mais de 774 milhões de casos confirmados de COVID-19 foram reportados à OMS e mais de 7 milhões de óbitos foram documentados (WHO, 2024) (Figura 1).

Figura 1 – Distribuição espacial e estratificação do número de casos de COVID-19 no mundo.

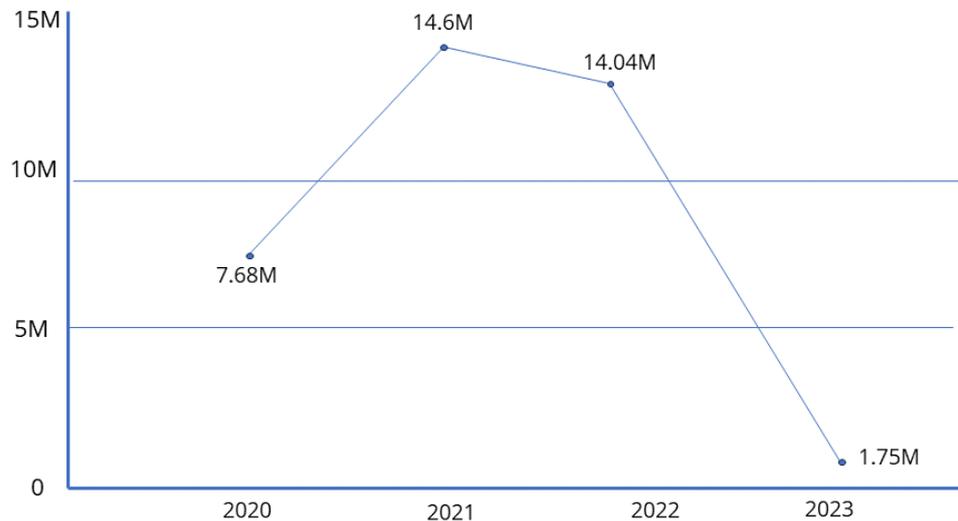


Fonte: Johns Hopkins University CSSE COVID-19 Data.

O Brasil decretou situação de emergência nacional de saúde pública devido à COVID-19 em 3 de fevereiro de 2020. O primeiro caso confirmado foi relatado em 25 de fevereiro de 2020 após a elaboração de um plano de emergência nacional e o estabelecimento de instalações de diagnóstico molecular em toda a rede de laboratórios de saúde pública do país (Souza et al., 2020). O Brasil enfrentou uma das epidemias mais graves de COVID-19 em todo o mundo, ocupando o sexto lugar em número de casos confirmados com o número de 37.717.062. (Figuras 2 e 3).

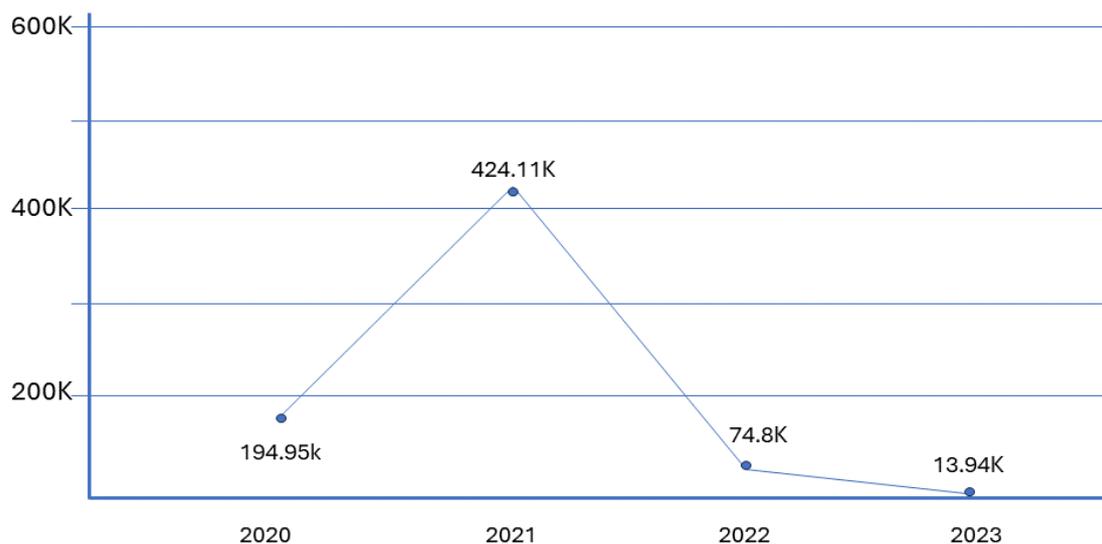
Até 14 de janeiro de 2024, os Estados Unidos, China e Índia ocupavam, respectivamente, as primeiras três posições no número cumulativo de casos confirmados de COVID-19. Destaca-se que os Estados Unidos lideravam com mais de 100 milhões de casos confirmados. Em relação aos óbitos acumulados ao longo do curso da pandemia, os Estados Unidos também apresentavam a maior incidência, ultrapassando um milhão de óbitos. O Brasil seguia na segunda posição, registrando mais de 700 mil óbitos, enquanto a Índia ocupava o terceiro lugar com mais de 500 mil óbitos (WHO 2024).

Figura 2 - Casos novos (incidência) de COVID-19 por Semana Epidemiológica de notificação no Brasil de 2020 a 2023.



Fonte online: [Coronavírus Brasil \(saude.gov.br\)](https://saude.gov.br/coronavirus) / Acesso em: 13/09/2023.

Figura 3 - Número de óbitos no Brasil por semana epidemiológica de 2020 a 2023:



Fonte online: [Coronavírus Brasil \(saude.gov.br\)](https://saude.gov.br/coronavirus) / Acesso em: 13/09/2023

Atualmente, a região Nordeste ocupa a terceira posição em número de casos confirmados de COVID-19 em relação às outras regiões do país, enquanto Sudeste e Sul

ocupam o primeiro e segundo lugares, respectivamente. Com relação aos estados da região, a Bahia ocupa o primeiro lugar em número de casos e óbitos, o Ceará possui o segundo maior número de casos e óbitos no Nordeste, e Pernambuco figura em terceiro lugar (MS, 2023).

Segundo o Boletim Epidemiológico de 2 de maio de 2023 da Secretaria Estadual de Saúde de Pernambuco, Recife, Jaboatão dos Guararapes e Olinda destacavam-se como cidades com maior incidência de casos desde o início da pandemia no estado. Quanto à distribuição por faixa etária, 47,9% eram do sexo feminino e 52,1% do sexo masculino. No que diz respeito aos casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) pelo SARS-CoV-2 em 2023, 18,47% ocorreram em indivíduos de 50 a 59 anos, 17,46% entre 60 e 69 anos, 16,23% entre 70 e 79 anos, e 14,41% em indivíduos com 80 anos ou mais. Em relação a comorbidades, doenças cardíacas e cardiovasculares estavam presentes em 28,4% dos casos, seguidas por diabetes em 20% e sobrepeso ou obesidade em 6,3% (CIEVS PE, 2023).

Até o dia 1 de maio de 2023, o estado de Pernambuco havia registrado 1.171.385 casos confirmados de COVID-19, com 32 novos casos confirmados durante as últimas semanas de acompanhamento. Além disso, foram registrados 22.787 casos de óbitos por SRAG causados pelo SARS-CoV-2, sem ocorrência de novos óbitos até a data mencionada (CIEVS PE, 2023).

2.1.2 Histórico do coronavírus

Os coronavírus (CoVs) pertencem à família Coronaviridae, que compreende um grupo de vírus de RNA de fita simples, com envelopamento e sentido positivo. Esses vírus, que abrigam o maior genoma entre os vírus de RNA (de 26 a 32 kilobases), foram denominados "coronavírus", devido à sua morfologia semelhante a uma coroa no microscópio eletrônico. Estruturalmente, os CoVs têm genomas não segmentados que compartilham uma organização semelhante (CDC, 2020; Huang C, 2020).

Com base na diferença entre as sequências de proteínas, os CoVs são classificados em quatro gêneros (alfa-CoV, betaCoV, gama-CoV e delta-CoV), entre os quais o gênero beta-CoV contém a maioria dos HCoVs (Coronavírus Humanos) e é subdividido em quatro linhagens (A, B, C e D). Evidências filogenéticas mostraram que os morcegos e roedores servem como fonte gênica da maioria dos alfa-CoVs e beta-CoVs, enquanto as aves são o principal reservatório de gama-CoVs e delta-CoVs. Durante milhares de anos, os CoVs têm constantemente cruzado as barreiras das espécies e alguns surgiram como importantes patógenos humanos (Madjid M et al, 2020).

Até o momento, sete (HCoV) são conhecidos. Entre eles, o HCoV-229E e o HCoV-NL63 são alfa-CoVs. Os outros cinco betas CoVs incluem o HCoV-OC43, o HCoV-HKU1, o coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) e SARS-CoV-2. HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-HKU1 e HCoV-NL63 geralmente causam sintomas leves, como resfriado comum e/ou diarreia. Por outro lado, o SARS-CoV, o MERS-CoV e o recém-identificado SARS-CoV-2 são altamente patogênicos, causando infecção grave do trato respiratório inferior em um número relativamente maior de pacientes com chance de desenvolver a síndrome da angústia respiratória aguda e manifestações extrapulmonares (Ye ZW, 2020).

2.1.3 Surgimento de SARS, MERS e SARS-CoV-2;

2.1.3.1 SARS:

A Síndrome Respiratória Aguda Grave (*em inglês SARS*), foi a primeira pandemia causada por HCoV bem documentada na história da humanidade e da própria propagação da doença, e o agente etiológico é o SARS-CoV, o terceiro HCoV descoberto. O primeiro caso de SARS remonta ao final de 2002 na província de Guangdong, província da China. A epidemia da SARS resultou em 8.096 casos registrados com 774 mortes, espalhando-se por muitos países e continentes. Para além dos super disseminadores, estimou-se que cada caso poderia levar a dois casos secundários, com um período de incubação de 4 a 7 dias e o pico da carga viral a aparecer no 10º dia de doença (Cheng, 2007).

2.1.3.2 MERS:

O MERS-CoV foi isolado pela primeira vez em 2012, no pulmão de um infectado de 60 anos que desenvolveu pneumonia aguda e insuficiência renal na Arábia Saudita. Enquanto a maioria dos casos confirmados em laboratório são originários do Oriente Médio, os outros casos disseminados através da disseminação secundária ocasional a contatos próximos, foram notificados em vários países europeus e na Tunísia. Outro surto secundário ocorreu na Coreia do Sul em 2015, com 186 casos confirmados. As manifestações clínicas da MERS assemelham-se às da SARS, caracterizada por pneumonia aguda progressiva. Ao contrário da SARS, muitos doentes com MERS desenvolveram também insuficiência renal aguda, o que não foi identificada por outras doenças causadas por Coronavírus Humano. Mais de 30% dos doentes apresentam sintomas gastrointestinais, tais como diarreia e vômitos. A partir de 14 de fevereiro

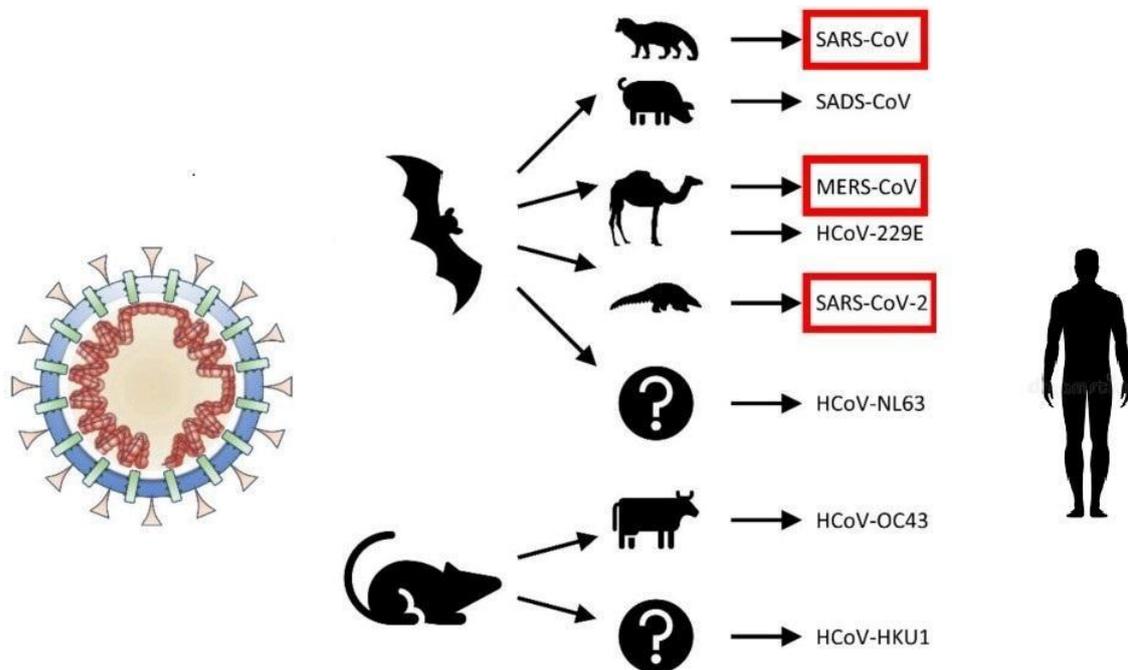
de 2020, foram notificados mais de 2500 casos confirmados com teste de laboratório, com uma elevada taxa de mortalidade. (Hilgenfeld, 2013; Coleman, 2013; Gao H, 2016).

2.1.3.3 SARS-CoV-2:

No final de 2019, uma doença respiratória foi identificada na China. Posteriormente, essa doença se disseminou ao redor mundo com um grande impacto a saúde pública mundial. A OMS declarou, no início de 2020, a infecção do trato respiratório inferior causada pelo SARS-CoV-2 como Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional e designou a doença por COVID-19. A partir de 3 de março de 2020, foram confirmados 90.053 casos em todo o mundo, com uma taxa bruta de letalidade de 3,4%.

Um estudo desenvolvido pela OMS em parceria com diversos cientistas teve como objetivos: 1) identificar a origem do vírus SARS-CoV-2; 2) investigar a rota de introdução do vírus na população humana; 3) e determinar os possíveis hospedeiros intermediários. Com base nos resultados desse estudo não foi possível identificar os primeiros pacientes infectados na China pelo vírus SARS-CoV-2. Entretanto, as evidências sugerem que o vírus SARS-CoV-2 possui origem animal, sendo então considerada uma zoonose. Sendo o morcego considerado seu reservatório ecológico do vírus SARS-CoV-2 (Zhou, 2020) (WHO, 2020). Esses estudos foram essenciais para compreender os aspectos epidemiológicos desse vírus (Figura 4).

Figura 4 – Origem dos Coronavírus. Hospedeiro original e hospedeiros intermediários.



Os estudos indicam que o vírus tem como hospedeiro original o morcego e como hospedeiros intermediários outros mamíferos como gatos, porcos e camelos. O hospedeiro intermediário do SARS-CoV-2 ainda é objeto de estudo, até o momento não foi identificado.

Fonte: Adaptado de Firas A Rabi, Mazhar S Al Zoubi et al, 2020.

2.2 Estrutura do SARS-CoV-2:

Os coronavírus são vírus que possuem um envelope e têm uma forma aproximadamente esférica com alguma variação em sua estrutura. Os vírions têm tamanhos médios entre 80 e 120nm. O SARS-CoV-2 possui um genoma constituído por seis grandes fases de leitura aberta (ORFs) comuns a outros coronavírus, além de diversos genes acessórios. Esses vírus têm a capacidade de transcrever RNAs mensageiros para cada proteína, permitindo o controle da taxa de síntese conforme as necessidades do vírus e da célula hospedeira. Seu ciclo de replicação inclui etapas de adesão, entrada, tradução da replicase viral, transcrição e replicação do genoma, tradução de proteínas estruturais, montagem e liberação do vírion (Khalil, 2020).

Os coronavírus são reconhecidos pela utilização da proteína S (Spike) para facilitar a entrada nas células hospedeiras através da ligação aos receptores do hospedeiro. As duas unidades funcionais desta proteína, S1 e S2, desempenham papéis cruciais na ligação ao

receptor do hospedeiro. O Receptor-Binding Domain (RBD) C-terminal, situado na extremidade carboxila da subunidade da proteína de pico, como observado no SARS-CoV-2, desempenha um papel direto na interação com os receptores de superfície (Li, 2014). É digno de nota que a proteína S exibe uma sequência altamente variável de resíduos de aminoácidos (Hu, 2017). No caso do SARS-CoV, o complexo receptor da proteína S possui cinco resíduos de aminoácidos cruciais para a transmissão entre humanos e entre diferentes espécies (Li, 2005). Semelhante ao SARS-CoV, o SARS-CoV-2 também utiliza a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) como receptor para a entrada nas células (Zhang, 2020).

2.2.1 Estrutura genética do SARS-CoV-2

O genoma do SARS-CoV-2 é composto por um RNA não segmentado de fita simples, sentido positivo, com uma capa 5'-terminal e uma cauda de poliadenilação 3', apresentando um tamanho surpreendentemente grande, variando de 27 a 32 quilobases (Khalil, 2020).

No final de janeiro de 2020, a sequência genômica do SARS-CoV-2 foi determinada e as informações foram divulgadas. Para entender a origem desse novo coronavírus e como ele está relacionado aos membros existentes do coronavírus, as sequências genômicas do SARS-CoV-2 foram comparadas com as do vírus da SARS, e com o vírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (Li, 2021) (Wang et al, 2020).

É interessante notar que a sequência do SARS-CoV-2 compartilhava uma homologia maior com o SARS-CoV do que com o MERS-CoV. O Bat-CoV e o SARS-CoV-2 apresentaram 92% de similaridade de sequência. A análise do nucleocapsídeo do MERS-CoV e do SARS-CoV-2 indicou apenas 65% de identidade. Infere-se que, o SARS-CoV-1 ou o bat-CoV podem ser a fonte da evolução do SARS-CoV-2 (Kannan, 2020).

O SARS-CoV-2 descoberto e analisado em 2020 é o sétimo coronavírus conhecido e mostrou propriedades semelhantes às do SARS-CoV como a presença de uma subunidade S1 altamente variável da proteína Spike. Também foi constatado que cerca de cinco dos seis resíduos do domínio S1 diferem no SARS-CoV-2 em comparação com o domínio S1 do vírus SARS-CoV (Zhou et al, 2020).

Entende-se, portanto, que a variação nos domínios S1 e S2 da proteína Spike atuam como o principal local de mutação, inserção e exclusão de genes durante cada transformação do SARS-CoV (Walls, 2020). Isso permite a evolução das novas formas infecciosas do vírus que são capazes de se ligar com eficiência ao domínio de ligação ao receptor, possibilitando

ainda mais a invasão eficaz das partículas virais nas células humanas. Se a via de transmissão de morcegos para humanos pode ou não incluir outros hospedeiros intermediários ainda é uma questão de especulação. Com base no perfil genético dos dois principais vírus relacionados ao SARS-CoV-2, que infectam humanos, é evidente que a distância entre o SARS-CoV-2 não é muito grande em relação as SARS-CoV, distância que é maior quando comparado ao MERS-CoV (Acter, 2020).

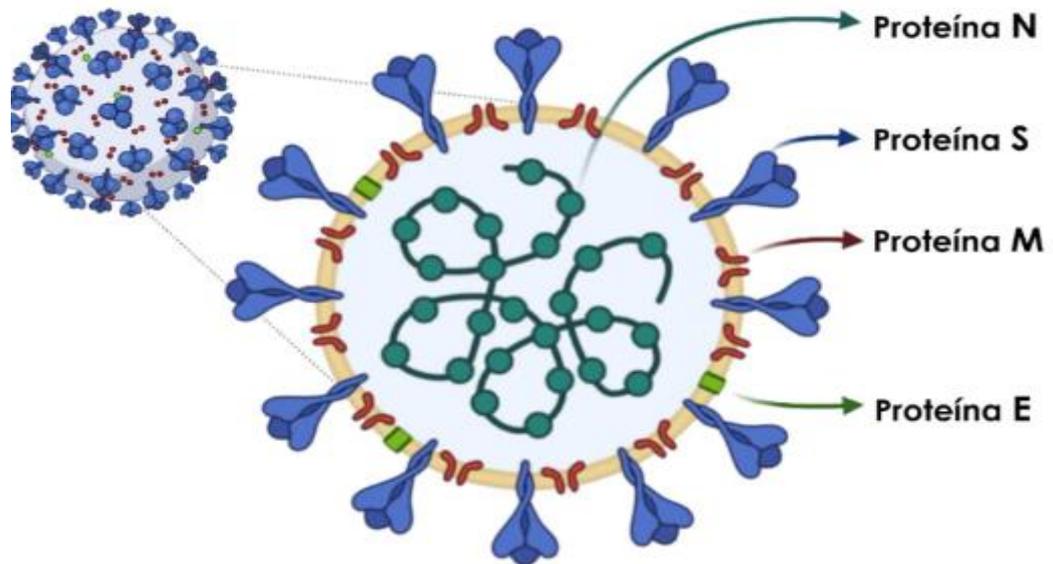
2.2.2 Estrutura proteica do SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2, assim como o SARS-CoV-1, contém quatro proteínas fundamentais em sua estrutura. Dentre elas, há a já citada Proteína S, que se projeta através do envelope viral formando a característica "coroa" da família de vírus, sendo crucial para a ligação aos receptores do hospedeiro (TMPRSS2 e ECA2) e fusão com a membrana da célula infectada, representando o principal antígeno para o desenvolvimento da resposta imune. Além disso, a proteína S está localizada na superfície do vírus, tornando-se facilmente acessível para o sistema imunológico. Quando exposta, ela desencadeia a produção de anticorpos pelo organismo, incluindo anticorpos neutralizantes que têm a capacidade de bloquear a interação entre a proteína S e o receptor ACE2, prevenindo assim a infecção das células. Portanto, a proteína S é um componente crucial no desenvolvimento de vacinas e terapias visando induzir uma resposta imune protetora contra o SARS-CoV-2 (Siu et al., 2008; Kumar et al., 2020).

As demais proteínas são a proteína M, que se projeta através do envelope desempenhando papel vital na montagem e liberação viral; a Proteína N, que associa-se ao RNA viral para formar o nucleocapsídeo e provavelmente está envolvida na regulação de sua síntese, sendo alvo potencial para linfócitos T citotóxicos; e a Proteína E, de envelope, cuja função específica ainda não é totalmente compreendida, mas que, junto às proteínas M e N, é essencial para a montagem e liberação do vírus (Siu et al., 2008; Kumar et al., 2020).

O receptor ACE2, por sua vez, é encontrado em várias partes do corpo humano, incluindo os pulmões, coração, rins e outros tecidos. O SARS-CoV-2 utiliza a proteína Spike para se ligar ao ACE2, o que é crucial para a infecção. Por fim, a proteína Nucleocapsídeo (N) não está diretamente envolvida na interação com receptores, mas é vital para o ciclo de vida do vírus. Ela liga-se ao RNA viral e ajuda a formar a cápsula do vírus, além de desempenhar um papel fundamental na replicação viral e na montagem de novas partículas virais (Figura 5) (Khalil, 2020).

Figura 5- Esquema da estrutura viral do SARS-CoV-2



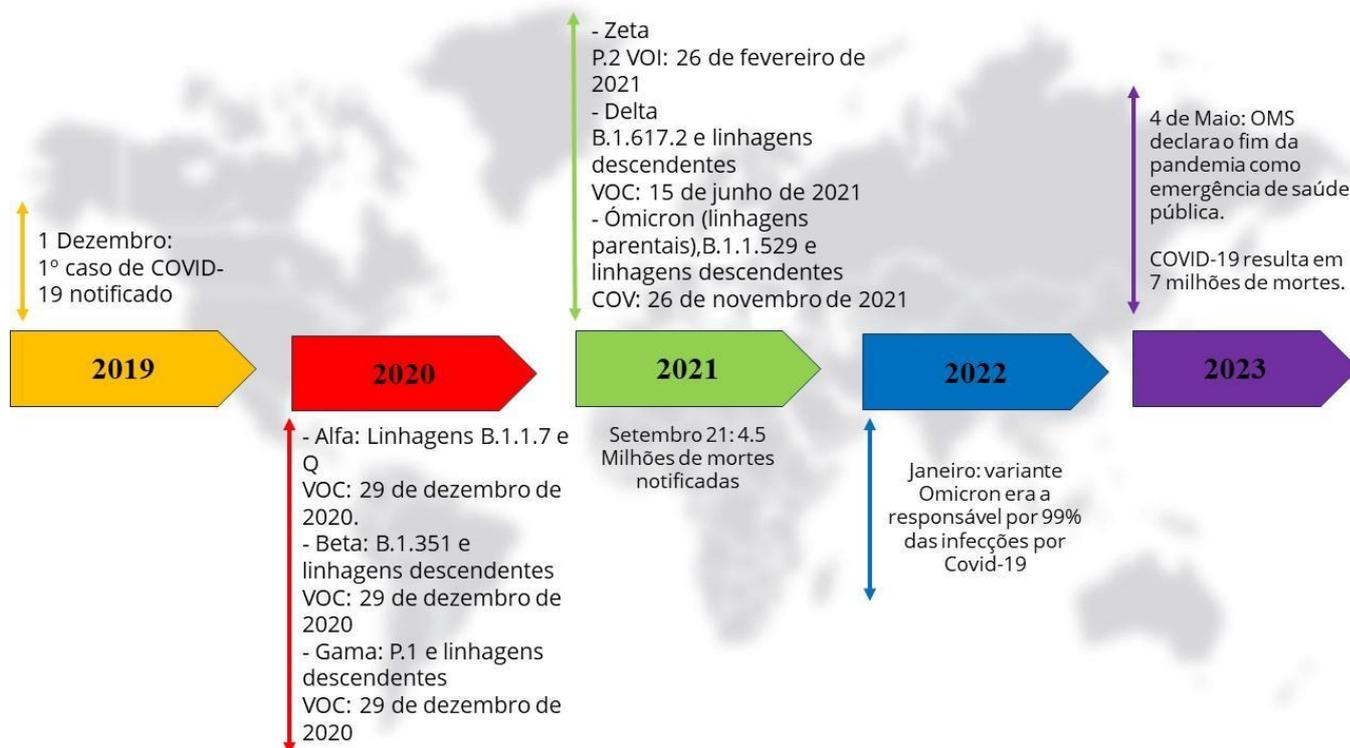
Fonte: Adaptado de Kumar et al., 2020

2.3 Variantes

Com base no impacto na saúde pública global, as variantes do SARS-CoV-2 têm sido classificadas, como Variantes de Preocupação (VOCs), Variantes de Interesse (VOIs) e Variantes sob Monitoramento (VUMs) (OMS, 2023).

As variantes de preocupação são aquelas com alterações significativas que podem afetar a saúde pública mundial, como maior transmissibilidade, virulência acentuada ou redução na eficácia de medidas de controle, como das vacinas atualmente disponíveis. Exemplos incluem as variantes Alfa (B.1.1.7), Beta (B.1.351), Gamma (P1) e Delta (B.1.617.2). Já as variantes de interesse ou sob monitoramento apresentam mutações que podem modificar o comportamento do vírus e são identificadas por transmissão comunitária ou múltiplos casos (OPAS, 2023). Dados sobre as variantes ao longo da pandemia (2019-2023) são sumarizados na Figura 6.

Figura 6: Linha do Tempo da Pandemia e as variantes do SARS-CoV-2.



A figura acima demonstra o início da pandemia, o caso zero na China e o acompanhamento das variantes (Nome e data de identificação) ao longo dos 4 anos de pandemia.

Siglas: VOC – variantes de preocupação; VOI – variantes de interesse.

Fonte: Adaptado de Giovanetti, 2023.

2.4 Fisiopatologia da COVID-19

2.4.1 Interação do SARS-CoV-2 com receptores das células hospedeiras

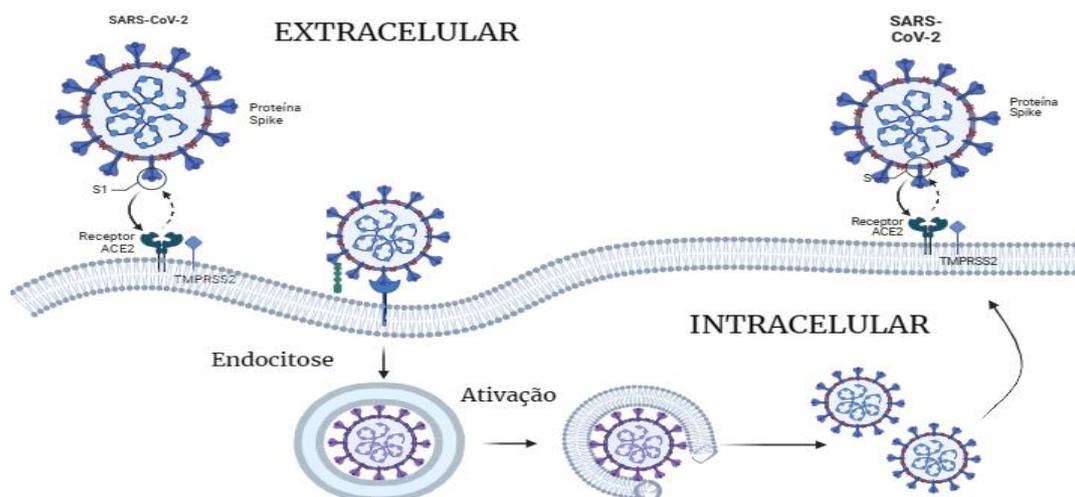
O ACE2, receptor de membrana tipo I, está amplamente distribuído em tecidos essenciais, incluindo pulmões, coração e intestino. Sua função principal é degradar a angiotensina II, regulando o Sistema Renina-Angiotensina (Hamming et al., 2004).

No processo de interação com o SARS-CoV-2, as proteínas S do vírus, divididas em S1 e S2, se ligam ao ACE2, facilitando a fusão com a membrana celular. A subunidade S2, uma vez exposta e clivada, promove a fusão membranar, permitindo a infecção celular (Yan et al., 2020) (Figura 7).

A variante Ómicron, por meio de clivagem subótima e uso da proteína TMPRSS2, adota a via endocítica para entrada celular, alterando seu tropismo. Além do ACE2, outros receptores como sulfato de heparano, CD209, CD299, SRB1, Siglec-9, ASGR1, KREMEN1, NRP-1, CD147 e CLEC4G foram identificados, ampliando o tropismo do vírus (Lim, 2022).

A interação vírus-receptor é crucial no ciclo de vida viral. Inibidores que interrompem essa ligação, combinados com medicamentos de diferentes mecanismos de ação, têm potencial terapêutico para prevenir a disseminação viral (Menendez-Arias e Delgado, 2022; Sacks, 2017).

Figura 7 – Interação do SARS-CoV-2 na célula humana:



Fonte: Autoria Própria, 2023 (BioRender).

2.4.3 Resposta imunológica ao SARS-CoV-2

Pacientes com doença assintomática ou leve podem ser protegidos principalmente pela resposta imunológica inata, que não necessita de reconhecimento específico por anticorpos ou células T. Por outro lado, a gravidade da doença pode estar relacionada à falha nos mecanismos de defesa iniciais ou ao desenvolvimento de uma resposta imune exagerada e potencialmente prejudicial, especialmente em indivíduos com comorbidades relevantes. Na medida em que o conhecimento sobre o SARS-CoV-2 e sua interação com o sistema imunológico avança, estratégias de intervenção e tratamento mais direcionadas podem ser desenvolvidas para melhorar os desfechos clínicos dos pacientes (Boechat, 2021).

A resposta antiviral envolve a imunidade inata, desencadeada pelo reconhecimento de RNA viral por receptores de reconhecimento de patógenos (PRRs) como RIG-I e TLRs. O fator regulador do interferon 3 (IRF3) desempenha papel crucial, estimulando a produção de interferons tipo I (IFN β). Os IFNs ativam a expressão de Genes Estimulados por IFN (ISGs), inibindo a replicação viral. Além disso, o IRF3 atua na apoptose das células infectadas, limitando a disseminação viral (Wang et al., 2020; Latifi-Pupovci, 2022).

É importante notar que a resposta imunológica adaptativa contra o SARS-CoV-2 em pacientes que nunca tiveram contato com o vírus ou que não foram vacinados pode levar algumas semanas para se desenvolver, permitindo, após transcorrido este tempo, a produção de anticorpos e células de defesa específicas (Long, 2020).

2.4.3.1 Resposta Imune Inata na COVID-19 e a Produção de Quimiocinas e Citocinas

A resposta imune inata ao SARS-CoV-2 envolve uma série de componentes humorais e celulares que desempenham papéis importantes na detecção, neutralização e eliminação do vírus. Os interferons (IFNs), por exemplo, são proteínas essenciais na resposta imune inata ao combater infecções virais. No contexto da infecção pelo SARS-CoV-2, os IFNs desempenham um papel importante na limitação da replicação viral e na ativação de respostas imunes adaptativas. Existem dois tipos principais de IFNs, os tipos I e III, que são produzidos em resposta à interação entre derivados microbianos e receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) nas células (Boechat, 2021).

A resposta de IFN começa com a interação entre os PRRs celulares e os componentes virais, que desencadeiam a ativação de cascata de sinalização intracelular. Isso inclui a ativação do fator nuclear kB (NF-kB) e fatores reguladores de interferon. Essa ativação leva à produção de citocinas pró-inflamatórias e IFNs tipos I e III. Os IFNs atuam por meio da via de sinalização JAK-STAT, induzindo a expressão de genes que têm efeitos antivirais e modulam a resposta imune (García-Sastre, 2017).

A interleucina-1 (IL-1) é outra citocina importante associada à inflamação e à imunidade inata. Ela é produzida principalmente por fagócitos mononucleares ativadas e tem a capacidade de induzir a produção de outras citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral (TNF). Embora a IL-1, quando administrada em baixas doses, possa ter um efeito protetor, níveis elevados produzidos durante infecções podem ser prejudiciais. No contexto da infecção por SARS-CoV-2, a IL-1 ativada pelo vírus pode estimular a secreção de IL-6 e TNF, formando um complexo pró-inflamatório que pode desencadear uma tempestade de citocinas com efeitos danosos tanto nos pulmões quanto sistemicamente. Além disso, a IL-1 e citocinas relacionadas, como IL-33 e IL-18, desempenham um papel na regulação da imunidade inata e inflamação em resposta a diferentes desafios microbianos ou ambientais. A IL-1 também está envolvida na diferenciação e polarização de células linfoides inatas (ILC-3/Th17) (Mantovani, 2019) (Quadro 2).

Quadro 2 - Citocinas Envolvidas na Infecção por SARS-CoV-2.

Citocina	Função durante a infecção por COVID-19
IL-2	Ativação de células T e B, promove a resposta imunológica adaptativa.
IL-6	Indução de resposta inflamatória, pode contribuir para a síndrome respiratória aguda.
IL-10	Anti-inflamatória, regula a resposta imunológica para evitar danos excessivos.
TNF-alfa	Indução da inflamação, envolvida na resposta a infecções virais.
IFN-alfa e IFN-beta	Atividade antiviral, importante na resposta inicial à infecção.
IFN-gama	Atividade antiviral, modula a resposta imunológica adaptativa.
IL-1	Mediação da inflamação, pode contribuir para a tempestade de citocinas.
IL-12 e IL-23	Ativam células NK e T, promovem resposta imunológica adaptativa.
IL-17	Regulação da inflamação, pode estar envolvida em respostas imunopatológicas.

Fonte: Autoria Própria.

Neutrófilos, um tipo de célula do sistema imunológico inato, também são considerados relevantes na patogênese da COVID-19. A infecção por SARS-CoV-2 induz a produção de quimiocinas, como CXCL2 (GRO) e CXCL8 (IL8), que recrutam neutrófilos para os locais de infecção. A presença de neutrofilia periférica, um aumento nos níveis de neutrófilos, tem sido observada em pacientes com COVID-19 e está associada a piores resultados clínicos. A relação entre a contagem de neutrófilos e a de linfócitos também foi identificada como um fator de risco independente para doença grave e morte. Alguns estudos sugeriram que os neutrófilos podem contribuir para a resposta inflamatória à COVID-19, promovendo lesão nos órgãos e coagulação anormal através de um processo conhecido como NETose. Durante a NETose, os neutrófilos liberam redes extracelulares de DNA, histonas, proteínas microbicidas e enzimas

oxidativas em resposta à ativação por padrões de reconhecimento de patógenos (PPRs) ou quimiocinas. Embora as NETs tenham atividade microbicida, sua formação sustentada pode levar a processos inflamatórios e danos teciduais (Middleton, 2020).

Estudos de autópsia em pacientes com COVID-19 relataram um aumento na concentração de NETs no plasma, amostras de tecido pulmonar e aspirado traqueal. Também foi descoberto que neutrófilos circulantes estavam infectados com o SARS-CoV-2 e liberavam altos níveis de NETs. Isso sugere que os neutrófilos têm um papel na resposta imune inata à infecção pelo vírus, e a necroinflamação relacionada às NETs pode desempenhar um papel central na tempestade de citocinas observada na COVID-19, bem como na ocorrência de sepse e falência de múltiplos órgãos (Tomar, 2020).

Além das supracitadas células que participam da resposta imune inata em respostas a infecção por COVID-19, as células Natural Killer (NK) também participam e são um tipo distintivo de linfócitos conhecidos por sua atividade citotóxica e função como células imunes inatas, desempenhando um papel crucial na resposta precoce a células cancerígenas e infectadas por vírus em situações de estresse fisiológico. Em infecções virais, as células NK desempenham um papel vital ao responder antes do desenvolvimento das respostas imunitárias adaptativas. A evidência do impacto das células NK na proteção contra infecções virais é observada em pacientes com deficiências seletivas dessas células, apresentando uma característica clínica marcante de infecções virais graves e recorrentes (Vivier, 2008; Wu, 2017; Orange, 2006).

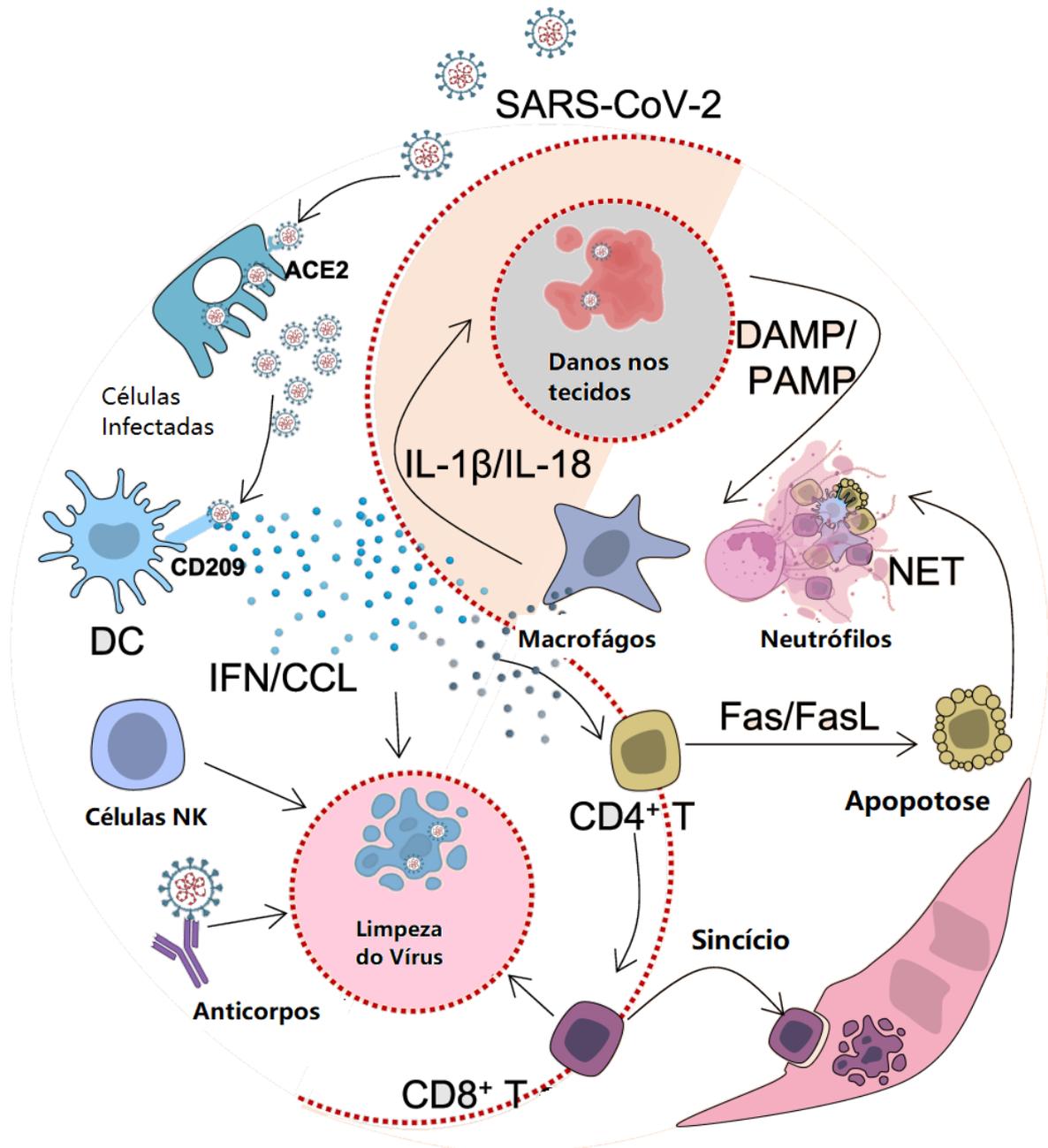
Durante a infecção por SARS-CoV-2, as células NK (Natural Killer) desempenham papéis cruciais. A redução das células NK CD56⁺ CD16⁺ no sangue está associada à gravidade da COVID-19, tornando-se um marcador prognóstico. Pacientes hospitalizados com contagens normais de células NK mostraram declínio mais rápido da carga viral (Maucourant, 2020).

Apesar do aumento nas células NK de memória em pacientes com COVID-19 prolongada, suas funções efetoras permanecem comprometidas. Expressões elevadas de moléculas citotóxicas como perforina e granzima A não se traduzem em uma eficaz citotoxicidade das células NK, especialmente em casos graves (Witkowski, 2021; Malengier-Devlies, 2022).

A regulação positiva de receptores inibitórios, como KIR e NKG2A, contribui para a exaustão das células NK. A expressão aumentada de PD-1, LAG-3 e TIGIT, juntamente com a diminuição de NKG2D, indica um estado exaustivo. A expansão de células NK CD56^{dim} CD16^{neg}, com citotoxicidade reduzida, é notada em casos graves e na Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Crianças (MIS-C) (Hutanu, 2022).

Em suma, as células NK respondem de maneira complexa à infecção por SARS-CoV-2, envolvendo ativação, adaptação, exaustão e alterações na expressão gênica. Essas características revelam a importância das células NK na dinâmica da resposta imunológica durante a COVID-19 (Bjorgen, 2023).

Figura 8 – Esquema da resposta imune a partir da infecção pelo SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptado de Li et al, 2022.

2.4.3.2 Imunidade adaptativa e vias de amplificação

Os indivíduos produzem anticorpos direcionados ao SARS-CoV-2, bem como células T CD4+ e células T CD8+ em resposta à infecção causada pelo SARS-CoV-2, como evidenciado por Grifoni et al. (2020). Anticorpos, células T CD4+ e células T CD8+ desempenham papéis cruciais no combate a infecções virais, porém, a função e a importância de cada componente da resposta imune adaptativa podem variar dependendo do vírus em questão. Em algumas infecções, um dos três ramos da imunidade adaptativa é de importância crítica para controlar a infecção viral e a sobrevivência do hospedeiro. Em contraste, em outras infecções virais, há uma notável interação e redundância entre esses ramos imunológicos, proporcionando múltiplos caminhos para controlar eficazmente a infecção e desenvolver uma imunidade sólida. Por esse motivo, é crucial avaliar células T CD4+ específicas para antígenos, células T CD8+ e anticorpos nos mesmos indivíduos (Sette, 2021).

As respostas imunológicas das células T CD4+ são observadas em quase todas as infecções por SARS-CoV-2. Notavelmente, as respostas das células T CD4+ ao SARS-CoV-2 são mais pronunciadas do que as respostas das células T CD8+, além de ser demonstrado que desempenham um papel significativo no controle da infecção inicial pelo SARS-CoV-2. As respostas das células T direcionadas a qualquer proteína viral pode ser importante para a imunidade protetora; no entanto, existe um interesse particular nas respostas das células T contra a proteína Spike do SARS-CoV-2, já que a maioria das vacinas candidatas contra a COVID-19 visam uma resposta especialmente contra a proteína S. A produção de anticorpos contra a proteína S depende das células T CD4+ específicas para a S, embora as células T CD4+ específicas para outras proteínas estruturais do vírus também possam contribuir.

Também chamadas como células T citotóxicas, as células T CD8+ desempenham um papel crucial no sistema imunológico na resposta a infecções virais, incluindo a infecção por COVID-19. Essas células têm a capacidade de reconhecer e destruir células infectadas por vírus. Durante uma infecção por COVID-19, as células TCD8 são ativadas quando detectam fragmentos de proteínas virais (peptídeos) apresentados na superfície de células infectadas. Essa apresentação é feita por moléculas chamadas complexo principal de histocompatibilidade classe I (MHC-I). As células TCD8 então reconhecem esses peptídeos virais apresentados pelo MHC-I e respondem atacando as células infectadas (Westmeier, 2020).

Após a resolução da infecção, algumas células TCD8 tornam-se células de memória. Isso significa que, se a pessoa for novamente exposta ao vírus no futuro, essas células de

memória podem ser rapidamente ativadas para montar uma resposta imunológica mais rápida e eficaz (Silva, 2022).

2.4.3.3 Resposta humoral e a produção de anticorpos

Anticorpos desempenham funções distintas nas respostas humorais naturais ou adaptativas, sendo os primeiros presentes sem infecção prévia, enquanto os segundos são desencadeados por antígenos. Após infecção viral, linfócitos B produzem anticorpos de alta afinidade contra antígenos virais. A soroconversão, detectada quando anticorpos são encontrados no sangue, é crucial (Neurath, 2008).

Três classes principais de anticorpos (IgM, IgG e IgA) desempenham papéis essenciais nas respostas imunes contra coronavírus humanos. A IgM, inicialmente aumentando após infecção, não é geralmente neutralizante. A IgG, a classe adaptativa mais abundante, exibe alta especificidade e é crucial na imunidade a longo prazo. A IgA, predominante nas mucosas, é vital para a imunidade nesses locais (Schroeder Jr, 2010)

Atualmente, é difícil calcular a "meia-vida" em termos de imunidade, devido à dualidade na resposta à infecção pelo SARS-CoV-2. Essa dualidade se manifesta através da imunidade imediata, responsável pela produção de anticorpos pelas células plasmáticas, e da resposta imunológica de memória, onde as células T auxiliares possibilitam a produção de células plasmáticas de longa duração que mantêm a secreção de anticorpos (Gaebler et al, 2021; Turner et al, 2021; Radbruch, 2021).

No contexto da COVID-19, o debate está em sobre qual aspecto da imunidade (humoral ou celular) está correlacionado com a proteção imunológica. Entretanto, um padrão emergente sugere a participação de ambos na contribuição para o controle da infecção pelo SARS-CoV-2, semelhante ao que ocorre com outras vacinas, como a do tétano (Amanna, 2007; Dan, 2021; Sette, Crotty, 2021).

Além disso, níveis neutralizantes de anticorpos estão associados à proteção imunológica em estudos com primatas. No entanto, permanece desconhecido o nível de anticorpos necessário para manter a imunidade e por quanto tempo ela durará (Krammer et al, 2021; Anichini et al, 2021).

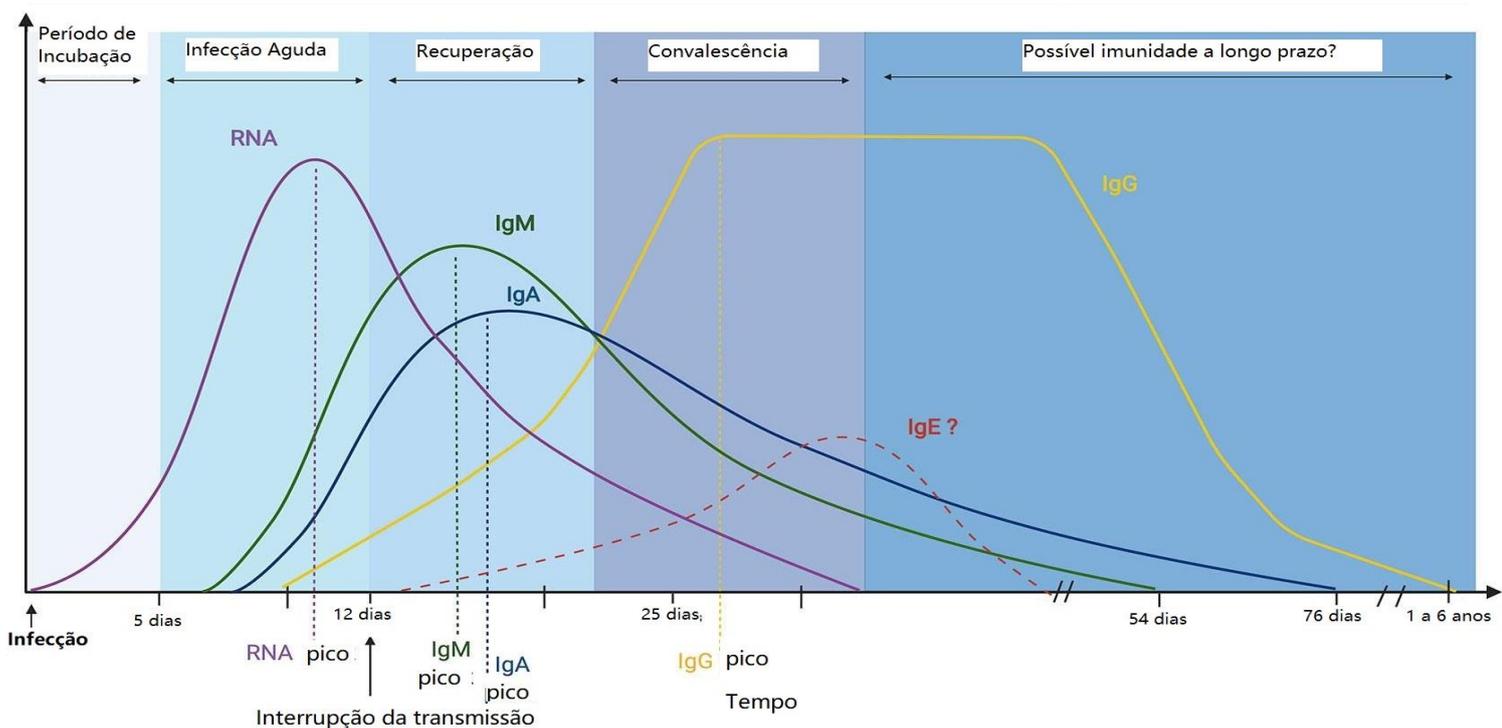
A preocupação com essas questões foi ampliada pelo surgimento e disseminação rápida de variantes do SARS-CoV-2 com alterações genéticas na proteína da espícula. Estudos indicam que a vacina Pfizer-BioNTech mantém uma reatividade cruzada satisfatória contra a

maioria dessas variantes, embora com níveis reduzidos de anticorpos neutralizantes. Em relação à influência de variáveis na resposta imunológica, observações atuais sugerem que ela seja mais robusta em indivíduos com imunidade prévia, alcançando níveis de anticorpos após uma dose de vacina comparáveis aos de indivíduos sem essa imunidade após duas doses (Krammer et al, 2021; Anichini et al, 2021).

Além disso, há evidências científicas de um maior nível de anticorpos em indivíduos do sexo feminino em resposta à vacinação ou infecção. Os mecanismos para essa diferença não estão completamente esclarecidos, mas quando em contato com o SARS-CoV-2, as mulheres parecem ter não apenas uma resposta imune mais robusta, mas também uma melhor capacidade de combater a infecção, o que pode justificar uma menor incidência de casos graves em mulheres (Zeng, Et Al, 2020; Oertelt-Prigione, 2020).

Quanto à associação entre idade e imunidade conferida pela vacina para COVID-19, observa-se um maior nível de anticorpos em indivíduos mais jovens, similar ao que ocorre com outras vacinas. Por outro lado, o envelhecimento está associado à imuno senescência, o que pode resultar em uma resposta vacinal mais fraca, especialmente com diferenças qualitativas na diferenciação das células produzidas (Frasca, et al, 2016; Peckham, et al., 2020).

Figura 9 - Resumo das características do isótopo de anticorpos e uma linha do tempo aproximada desde a infecção pelo SARS-CoV-2 até a possível imunidade.



Representação dos diferentes isotipos de anticorpos, suas funções principais e a regulação de citocinas associadas à mudança de classe. A linha do tempo mostra a aparição e subsequente diminuição de cada isotipo em relação ao RNA viral, com base em estudos sorológicos recentes discutidos nesta revisão. A representação da linha do tempo da IgE é hipotética devido à escassez de literatura sobre sua implicação na patogênese e imunidade ao SARS-CoV-2.

Adaptado de: Galipeau et al, 2020.

2.4.3.4 Sintomatologia da COVID-19

O quadro 1 a seguir descreve os principais sinais e sintomas observados em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, bem como as complicações e os fatores de risco atrelados.

Quadro 1 – Sintomas gerais da COVID-19, Fatores de Risco, Complicações e Comorbidades.

Tópico	Sintomas	Fatores de risco e Comorbidades
Sintomas Gerais	Febre, tosse seca, falta de ar, fadiga, perda de paladar e olfato, dor de cabeça, congestão nasal, rinorreia, dor de garganta, mialgia, falta de apetite, diarreia, vômitos.	-
Complicações Cardiovasculares (Casos Graves)	Injúria miocárdica, trombose, disfunção ventricular, miocardite, arritmias, choque.	Idade avançada, sexo masculino, comorbidades (diabetes, hipertensão, Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), doença cardíaca coronária).
Mortalidade	Alta mortalidade por todas as causas em pacientes com COVID-19 e doenças cardiovasculares em hospitais.	Alta proporção de neutrófilos/linfócitos, sobrepeso/obesidade, hipóxia grave, acúmulo de ácido láctico estão relacionados a óbitos.

Adaptado de: Chen et al, 2020; Guo, 2020; Guzik, 2020.

2.5 Desenvolvimento de vacinas contra o SARS-CoV-2

Em 2023, após mais de três anos desde o início da pandemia de COVID-19, estão em andamento 199 projetos de desenvolvimento pré-clínico de vacinas, juntamente com 183 projetos de desenvolvimento clínico, incluindo aquelas em estágios avançados de testes pós-comercialização. As vacinas candidatas em fase clínica estão sendo desenvolvidas com base em várias plataformas, incluindo subunidade proteica, DNA, RNA, vetor viral sem capacidade de replicação, vetor viral com capacidade de replicação, vírus inativado, partículas semelhantes a vírus, vírus vivo atenuado, vetor viral com capacidade de replicação combinado com células apresentadoras de antígenos, vetor viral não-replicante combinado com células apresentadoras de antígenos e vetor de expressão de antígenos bacterianos. A maioria das vacinas candidatas em fase clínica são vacinas de subunidade proteica e vacinas de RNA (WHO, 2023).

No quadro 3 estão descritas as diferentes plataformas de vacinas contra a COVID-19 aprovadas em ao menos um país e a proporção de cada uma em relação às demais plataformas. Já no quadro 4 estão listadas as principais vacinas desenvolvidas e aprovadas contra a COVID-19, assim como detalhes do desenvolvimento e as desvantagens.

Quadro 3 - Plataforma de vacinas aprovadas em pelo menos um país.

Tipo de vacina	Percentual em relação ao total
1 Vacina de Subunidade Proteica	32%
2 Vacina de DNA	9%
3 Vacina de RNA	23%
4 Vacina de Partícula de Vírus	4%
5 Vacina de Vírus Atenuado	1%
6 Vacina de Vetor de Expressão de Esporos de Antígeno Bacteriano	1%
7 Vacina de Vetor Viral não Replicante	13%
8 Vacina de Vírus Inativado	13%
9 Vacina de Vetor Viral Replicante	2%
10 Vacina de Vetor Viral Replicante com Antígeno	1%

Fonte: Adaptado de Zasada, 2023.

Quadro 4 - Principais vacinas aprovadas contra a COVID-19 e suas plataformas de desenvolvimento, riscos e desvantagens.

	Principais Vacinas	Descrição e Desenvolvimento	Riscos e Desvantagens
Vacinas Vivas Atenuadas e Inativadas	- COVI-VAC (Codagenix, Serum Institute of India) em fase III - CoronaVac (Sinovac Life Sciences)	COVI-VAC e MV-014-2012 em estágios clínicos - Vacinas inativadas envolvem processo de inativação química - Riscos em pessoas com sistema imunológico enfraquecido	- Potencial eficácia contra várias variantes - Riscos de causar doença ativa em indivíduos vulneráveis
Vacinas de Subunidades Proteicas	NovaVax (Nuvaxovid)	- Composição antigênica bem definida - Utilizam a proteína Spike (S) do SARS-CoV-2 - Adjuvantes de alumínio comuns	- Baixa imunogenicidade, - Necessidade de doses de reforço - Reações adversas leves ou moderadas
Vacinas de RNAm	- Comirnaty (Pfizer, BioNTech)	- Utiliza RNAm para codificar a proteína Spike - Tecnologia inovadora e eficaz	- Reações locais e sistêmicas, geralmente leves - Necessidade de armazenamento em condições específicas - Eficácia pode diminuir com novas variantes
Vacinas Baseadas em Vetores (VVr, VVnr)	- Jcovden (Johnson & Johnson) - Vaxzevria (Oxford/AstraZeneca) - Sputnik V (Gamaleya)	- Utilizam vetores virais modificados - Jcovden e Vaxzevria baseadas em adenovírus - Sputnik V utiliza adenovírus Ad26 e Ad5	- Efeitos secundários leves a moderados - Possível imunidade pré-existente contra adenovírus - Eficácia variável
Vacinas de DNA	- Nenhuma aprovada globalmente	- Introdução direta de plasmídeo de DNA - Estímulo de imunidade celular e humoral	- Limitadas a imunogênicos proteicos - Tecnologia ainda em desenvolvimento
Vacinas de Partículas Semelhantes a Vírus (VLP)	- Nenhuma aprovada globalmente	- Baseadas em nanoestruturas que imitam vírus - Produzidas por engenharia genética	- Potencial como alternativa econômica - Complexidade do mecanismo de ação

Fonte: Autoria Própria, 2024.

2.6 Plataformas atuais de vacinas contra a COVID-19

2.6.1 Vacinas vivas atenuadas e inativadas

As vacinas vivas atenuadas têm sido utilizadas com sucesso por muitas décadas para prevenir doenças graves, como a tuberculose, o sarampo, a caxumba, a rubéola, a varicela e a infecção por rotavírus. Uma característica das vacinas vivas atenuadas é que geralmente proporcionam imunidade contra todas as proteínas do agente patogênico alvo, tornando-as potencialmente eficazes contra várias variantes genéticas desse agente patogênico. No entanto, é importante notar que essas vacinas também carregam um certo risco de causar doença ativa em pessoas que têm um sistema imunológico particularmente enfraquecido ou comprometido. Até o momento, não foram aprovadas vacinas vivas atenuadas para a COVID-19. No entanto, duas dessas vacinas estão atualmente em estágios clínicos de desenvolvimento. A COVI-VAC, produzida pela Codagenix em parceria com o Serum Institute of India, encontra-se na fase III de ensaios clínicos. Além disso, a MV-014-2012, produzida pela Meissa Vaccines Inc., está na fase I dos ensaios clínicos. É importante notar que ambas essas vacinas são administradas através da via intranasal (Sazada et al, 2023).

Por sua vez a produção de vacinas inativadas, requer instalações laboratoriais especiais para o cultivo seguro do vírus ou da bactéria, o que pode resultar em um tempo de produção relativamente longo. Além disso, as vacinas inativadas têm uma potência de antígeno reduzida em comparação com as vacinas vivas atenuadas, o que significa que precisam de um adjuvante para serem eficazes (Golab, 2008).

Atualmente, existem 11 vacinas inativadas contra a COVID-19 aprovadas em todo o mundo. A vacina Covilo, desenvolvida pela empresa chinesa Sinopharm de Pequim (também conhecida como BBIBP-CorV ou BIBP), é a vacina inativada contra a COVID-19 com a maior aprovação internacional. Ela foi aprovada em 93 países, incluindo o Brasil. Esta vacina foi avaliada em 39 ensaios clínicos conduzidos em 18 países (WHO, 2023).

A empresa chinesa Sinovac Life Sciences Co. desenvolveu uma vacina inativada contra a COVID-19 chamada CoronaVac. Esta vacina utiliza a estirpe CN02 do vírus SARS-CoV-2, que foi inativada quimicamente através do uso de β -propiolactona. A estirpe do vírus foi cultivada em linhas celulares vero. Além disso, a vacina CoronaVac inclui um adjuvante à base de hidróxido de alumínio para aprimorar a resposta imunológica (Zang, 2021).

A CoronaVac recebeu aprovação em um total de 56 países, incluindo, Brasil. A eficácia da vacina variou, com uma taxa de eficácia superior a 50% no Brasil na prevenção de infecções sintomáticas e assintomáticas por SARS-CoV-2, e atingindo 83,5% na Turquia, onde a eficácia na prevenção de sintomas de COVID-19 também foi avaliada. A maioria das reações adversas após a administração da CoronaVac foi classificada como leves ou moderadas. No entanto, foram identificadas oito reações adversas graves, como miopatia e colite ulcerosa (Zhang, 2021).

2.6.2 Vacinas de subunidades proteicas

As vacinas de subunidades proteicas representam uma evolução na tecnologia de vacinas, após as vacinas vivas e inativadas. Essas vacinas contêm fragmentos altamente purificados e imunogênicos de microrganismos patogênicos. As vacinas de subunidades proteicas são desenvolvidas utilizando os componentes proteicos das partículas virais. Além disso, é possível criar vacinas conjugadas combinando vários antígenos (Creech, 2021; Kumar, 2023).

Uma das principais vantagens das vacinas de subunidades é que a composição antigênica é bem definida e testada, o que reduz significativamente o risco de efeitos colaterais. Essas vacinas são consideradas muito seguras. No entanto, elas tendem a ter uma baixa imunogenicidade, o que significa que geralmente requerem adjuvantes para aumentar a resposta imunológica. Além disso, muitas vezes são necessárias doses de reforço. Ao contrário das vacinas vivas atenuadas, a resposta imunológica às vacinas de subunidades geralmente se concentra na produção de anticorpos, com pouca ou nenhuma imunidade celular. Em contraste, as vacinas vivas atenuadas induzem uma resposta imunológica que se assemelha muito à produzida por uma infecção natural (Li, 2014; Kumar, 2023).

No desenvolvimento da vacina contra a COVID-19, a proteína spike (S) do SARS-CoV-2 é considerada o principal antígeno (Merkuleva et al, 2022; Fernandes et al 2022).

As vacinas de subunidades proteicas demonstraram bom perfil de segurança em ensaios clínicos. Em comparação com outras vacinas contra a COVID-19, apresentaram taxas significativamente menores de reações locais (33,0%) e sistêmicas (22,3%). As reações mais comuns foram dor e sensibilidade no local da injeção, assim como fadiga e dores de cabeça. Eventos adversos foram geralmente leves, especialmente em idosos, e a incidência diminuiu com a idade. Não houve diferenças significativas nas taxas de eventos adversos graves ou

mortes entre os grupos que receberam a vacina e os que receberam o placebo, tanto nos ensaios clínicos quanto na vacinação em massa (Wu et al., 2021; Kauhpayeh, 2022).

2.6.3 Vacinas de RNAm:

As vacinas de RNA mensageiro (mRNA) representam uma abordagem inovadora no campo da vacinologia. Essas vacinas fornecem uma sequência de nucleótidos que codifica o antígeno ou antígenos selecionados devido ao seu potencial para induzir uma resposta imunológica protetora. As vacinas de mRNA contra a COVID-19 são as primeiras vacinas baseadas nessa tecnologia a serem aprovadas para uso em programas de saúde pública. (Calina, 2020).

As vacinas de mRNA apresentam várias vantagens, como alta potência, capacidade de iniciar a produção de proteínas sem a necessidade de entrada no núcleo celular, desenvolvimento rápido, potencial para fabricação de baixo custo e administração segura por meio de uma via não viral. Além disso, essas vacinas não exigem o cultivo do vírus em laboratório, o que aumenta a flexibilidade e eficiência no processo de desenvolvimento (Joshi et al, 2021; Mohammadi et al, 2021).

Até o momento, quatro empresas desenvolveram vacinas de mRNA contra a COVID-19 que foram aprovadas pelo menos em um país. Essas vacinas representam um avanço significativo na resposta global à pandemia (WHO, 2023).

Comirnaty é uma vacina de mRNA contra a COVID-19 que foi desenvolvida em uma colaboração entre a Pfizer, dos Estados Unidos, e a BioNTech, da Alemanha. Ela também é conhecida como Tozinameran ou BNT162b2. A vacina Comirnaty foi aprovada em 149 países, incluindo o Brasil, onde é conhecida como Pfizer/Biontech. Esta vacina contém uma molécula de RNA mensageiro (RNAm) de cadeia simples com capa 5', que foi produzida por transcrição *in vitro* sem a necessidade de células hospedeiras, a partir de um modelo de DNA. O RNAm codifica a proteína spike (S) do vírus SARS-CoV-2. Os efeitos secundários mais comuns relatados após a vacinação com Comirnaty incluem dor no local da injeção, fadiga, dores de cabeça, dores musculares, arrepios, dores nas articulações e febre. Além disso, o inchaço no local da injeção também pode ocorrer (Polack, 2020).

A eficácia da vacina Comirnaty foi estimada em 94,6% na proteção contra a COVID-19 em adultos e adolescentes a partir dos 16 anos de idade. Além disso, a vacina demonstrou 100% de eficácia na proteção contra formas graves da COVID-19 que requerem hospitalização e podem resultar em morte. No entanto, a eficácia da vacina pode diminuir com o surgimento e a predominância de novas variantes do SARS-CoV-2. Em resposta a isso, a empresa

desenvolveu uma vacina modificada que contém RNAm específico para as novas variantes do vírus, como a variante Omicron BA.1 e as variantes Omicron BA.4/BA.5. Isso mostra a capacidade de adaptação das vacinas de RNAm às mudanças no vírus (Tartof et al, 2021).

2.6.4 Vacinas com base em vetores (VVr, VVnr):

As vacinas baseadas em vetores virais, semelhantes às vacinas de RNA mensageiro, representam a mais recente evolução na tecnologia de vacinas. Essas vacinas contêm um vetor viral modificado no qual é inserido um gene que codifica um antígeno específico, neste caso, a proteína spike (S) do vírus SARS-CoV-2. O vetor viral age como um veículo para o antígeno. Atualmente, existem dois tipos de vacinas baseadas em vetores virais em uso no Brasil, que são: Jcovden (Johnson & Johnson) e a Vaxzevria (Oxford/AstraZeneca) (OMS, 2023). Após a administração da vacina, o antígeno é expresso e desencadeia uma resposta imunológica forte, tanto na parte humoral (produção de anticorpos) quanto na parte celular, de maneira semelhante ao que ocorre durante uma infecção natural. A administração da vacina leva à liberação de citocinas, quimiocinas e moléculas coestimuladoras, que atuam como adjuvantes, reforçando ainda mais a resposta imunológica (Zhao et al, 2020).

Isso é particularmente notável nas vacinas baseadas em vetores virais replicantes, onde novas partículas virais são formadas após a administração, o que melhora a apresentação do antígeno e leva a respostas imunológicas mais fortes. Como resultado, uma dose menor de uma vacina baseada em vetor replicante pode ser eficaz, tornando-as mais seguras e eficazes. No caso das vacinas baseadas em vetores virais não-replicantes, pode ser necessária uma administração adicional de doses na vacinação primária e/ou doses de reforço para alcançar uma resposta imunológica forte e duradoura, devido à sua incapacidade de criar novas unidades virais após a administração. Essas vacinas representam uma abordagem inovadora e promissora no desenvolvimento de imunizações eficazes contra doenças infecciosas, como a COVID-19 (Chavda et al, 2022). Os adenovírus são os vetores virais mais conhecidos e amplamente caracterizados para o desenvolvimento de vacinas. (Mendonça et al, 2021).

O interesse dos pesquisadores em usar vetores virais no desenvolvimento da vacina contra a COVID-19 foi impulsionado por experiências anteriores na terapia genética e no desenvolvimento de plataformas de vacinas para outras doenças, como AIDS, malária, Zika e ebola. Até o momento, nove vacinas baseadas em vetores virais não replicantes foram

aprovadas em todo o mundo como parte do esforço global para combater a pandemia (Patel et al, 2022; WHO, 2023).

A vacina Jcovden, desenvolvida pela Janssen (Johnson & Johnson), também conhecida como Ad26.COV2.S, Ad26COVS1 e JNJ-78436735, foi aprovada em 113 países, incluindo o Brasil. Essa tecnologia de vetor viral já havia sido empregada anteriormente no desenvolvimento da vacina contra o ebola. Os eventos adversos mais comuns relatados após a vacinação com Jcovden incluíram fadiga, dores de cabeça, mialgia, náuseas e febre com temperatura superior a 38,0 °C. A eficácia da vacina Jcovden na prevenção da doença COVID-19 em adultos foi estimada em 66,9% após uma única dose e 14 dias após a vacinação, e 66,1% após uma única dose e 28 dias após a vacinação. Além disso, a eficácia da vacina contra a COVID-19 grave foi estimada em 76,7% e 85,4%, respectivamente, na análise principal. Em análises mais atualizadas, a eficácia da vacina foi estimada em 76,1% na prevenção da COVID-19 sintomática e grave, ocorrendo após 14 dias da vacinação (Patel et al, 2022).

Em ensaios clínicos que investigaram a eficácia da vacinação de reforço com a Jcovden, foi confirmado que essa abordagem é eficaz para reforçar a imunidade após a vacinação primária. Esses estudos demonstraram um aumento significativo nos níveis de anticorpos neutralizantes e de ligação à proteína S do SARS-CoV-2 quando uma dose de reforço foi administrada dois meses ou mais após a vacinação primária, em comparação com o esquema de dose única. Além disso, a vacina Jcovden mostrou ser capaz de impulsionar as respostas de anticorpos mesmo em indivíduos que receberam duas doses de outras vacinas, como Spikevax ou Comirnaty. Resultados semelhantes foram observados quando a vacinação inicial consistiu na vacina Vaxzevria e a dose de reforço foi administrada com a vacina Jcovden. Isso sugere que a vacina Jcovden pode ser utilizada eficazmente como uma opção de reforço, independentemente do tipo de vacina utilizado na vacinação primária (EMA, 2023).

A vacina Vaxzevria, desenvolvida pela Oxford/AstraZeneca e também conhecida como AZD1222 ou ChAdOx1 nCoV-19, foi aprovada em 149 países, incluindo o Brasil. Esta vacina utiliza um adenovírus de chimpanzé como vetor para codificar a glicoproteína Spike do SARS-CoV-2, conhecida como ChAdOx1-S. Os eventos adversos mais comuns após a administração da vacina Vaxzevria incluem dor no local da injeção, fadiga, mialgia, mal-estar, febre igual ou superior a 38 °C, arrepios, artralgia e náuseas. A maioria desses efeitos secundários foi de natureza leve ou moderada e geralmente ocorreu nos primeiros dias após a vacinação. Houve notificações raras de casos de trombose com síndrome de trombocitopenia que surgiram nas

primeiras três semanas após a vacinação. Após a segunda dose, os efeitos secundários foram mais leves e menos frequentes (Wadman, 2020).

A eficácia da vacina Vaxzevria foi estimada em cerca de 60% com base em estudos realizados no Reino Unido (estudo COV002) e no Brasil (estudo COV003). Além disso, um estudo conduzido nos Estados Unidos, Peru e Chile, com a participação de 21% dos participantes com mais de 65 anos, relatou uma redução significativa de 74% no número de casos de COVID-19 sintomáticos em pessoas que receberam duas doses da vacina (a segunda dose administrada 4 semanas após a primeira) em comparação com aqueles que receberam uma injeção de controle (Wad, 2023).

A vacina Sputnik V, também conhecida como Gam-COVID-Vac, foi desenvolvida pelo Centro Nacional de Epidemiologia e Microbiologia de Gamaleya, na Rússia, e foi aprovada em 74 países, incluindo o Brasil. Essa vacina utiliza dois tipos de adenovírus, o rAd tipo 26 (rAd26) e o rAd tipo 5 (rAd5), ambos incorporando o gene completo da glicoproteína S do SARS-CoV-2. A administração da Sputnik V ocorre em duas doses, e há uma particularidade interessante: a primeira dose utiliza o adenovírus Ad26, enquanto a segunda dose contém o adenovírus Ad5. Essa abordagem visa contornar a possível presença de imunidade pré-existente contra adenovírus na população (Jones, 2021).

Os eventos adversos mais comuns após a administração da vacina incluem reações no local da injeção, dores de cabeça, astenia (fraqueza) e sintomas semelhantes aos da gripe. A maioria desses eventos foi de natureza leve (94,0%). Durante o estudo, foram registrados eventos adversos graves em 0,3% dos indivíduos que receberam a vacina e 0,4% no grupo do placebo, sendo que nenhum deles foi considerado relacionado à vacinação. A eficácia da vacina Sputnik V foi estimada em 91,6%, com base em resultados provisórios da fase III, 21 dias após a primeira dose. Além disso, a eficácia na prevenção de formas mais graves da doença foi estimada em impressionantes 100% (Tukhvatulin et al, 2021).

2.6.5 Vacinas de DNA:

As vacinas de DNA, semelhantes às vacinas de mRNA, eram pouco conhecidas antes da pandemia de COVID-19. Essas vacinas operam introduzindo um plasmídeo de DNA contendo a sequência que codifica os antígenos diretamente nos tecidos apropriados do corpo. Esses antígenos são então expressos e traduzidos em proteínas, desencadeando uma resposta imunitária. As vacinas de DNA oferecem vantagens, como a estimulação da imunidade celular

e humoral, alta estabilidade, ausência de agentes infecciosos e facilidade relativa na produção em larga escala. Contudo, sua limitação a imunogênicos proteicos pode ser considerada uma desvantagem, apesar dos avanços em tecnologias para direcionar o DNA para células específicas ou atuar como adjuvantes. A Organização Mundial da Saúde (OMS) desenvolveu orientações para regulamentar as vacinas de DNA, visando estabelecer uma base científica sólida para sua produção, garantindo sua segurança e eficácia. Cada país pode adaptar essas diretrizes de acordo com suas necessidades específicas para o desenvolvimento de vacinas de DNA. Contudo, até o final de 2022, nenhuma vacina de DNA havia sido desenvolvida e utilizada contra a COVID-19 (Ferraro et al, 2011; Mallapaty, 2021).

2.6.6 Vacinas de partículas semelhantes a vírus (VLP):

As Partículas Semelhantes a Vírus (VLPs) são nanoestruturas que imitam vírus, mas carecem da capacidade de replicação, pois não possuem material genômico viral. Com base em proteínas do capsídeo viral, as VLPs se auto-organizam em uma plataforma flexível para interações proteicas nas células hospedeiras. Organizadas e variando em tamanho de 20 a 200 nm, essas partículas podem adotar diversas formas geométricas, como icosaédrica, simetria helicoidal, bastão ou globular. Sua formação envolve equilíbrio termodinâmico, com forças como "van der Waals", ligações de hidrogênio, interações hidrofóbicas e eletrostáticas durante as fases de nucleação e crescimento. Produzidas por engenharia genética, as VLPs possibilitam a criação de diferentes tipos de partículas, como mosaicos compostos por várias proteínas ou fragmentos, imitando a estrutura viral com alta imunogenicidade. Acreditadas como alternativas econômicas e simples às vacinas convencionais, as VLPs apresentam segurança e complexo mecanismo de ação associado a padrões moleculares únicos (Li et al, 1997; Tariq et al, 2022; Chroboczek et al, 2014).

2.7 Profissionais da saúde como grupo prioritário para a vacinação precoce contra a COVID-19.

Enquanto a pandemia se alastrou ao redor do mundo, a análise da resposta imune em adultos jovens tornou-se cada vez mais relevante. À medida que os programas de vacinação se expandem, é essencial entender como essas respostas imunes variam em diferentes grupos demográficos, inclusive nos profissionais de saúde que trabalharam diretamente com a COVID-19, seja na atenção primária, UTIs ou testagem. A pesquisa nessa área pode fornecer subsídios importantes para a otimização das estratégias de vacinação e a proteção de toda a população e

dos profissionais de saúde que trabalham na linha de frente.

Os profissionais da saúde na linha de frente estão sujeitos a um maior risco de contrair infecções em ambientes hospitalares enquanto tratam pacientes afetados por doenças altamente contagiosas. Durante a pandemia de COVID-19, esses profissionais enfrentaram um risco substancialmente elevado de infecção e mortalidade devido à sua exposição extensa ao vírus. Nos Estados Unidos, os trabalhadores da saúde representaram 11% de todos os casos de COVID-19 reportados, de acordo com os dados dos Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) (Shaukat, 2020; Wilkins, 2021; Cdc COVID-19 Response Team, 2020).

Os profissionais de saúde da linha de frente têm sido identificados em todo o mundo como um grupo prioritário para a vacinação devido à sua exposição ocupacional, ao risco de transmitir a doença aos pacientes e à situação crítica do sistema de saúde. O CDC recomendou que os trabalhadores da saúde sejam os primeiros a receber a vacinação contra a COVID-19, uma vez que seu bem-estar e disponibilidade desempenham um papel crucial no cuidado e tratamento de outras pessoas. Portanto, garantir sua proteção continua sendo uma prioridade nacional (Haq, 2022).

Algumas revisões recentes da literatura indicam que os profissionais de saúde da linha de frente enfrentam diversas consequências para a saúde devido à pandemia de COVID-19. Entre aqueles infectados, os sintomas mais comuns incluem febre e tosse, semelhantes aos observados na comunidade em geral. Foram identificados vários fatores de risco, como longas horas de trabalho, serviço em departamentos de alto risco, falta de Equipamento de Proteção Individual (EPI), exposição familiar, higiene inadequada das mãos e controle insuficiente de infecções. Além disso, o uso prolongado de EPI resultou em lesões na pele, sendo a ponte nasal o local mais comum. O enfrentamento da COVID-19 na linha de frente torna os profissionais de saúde vulneráveis a problemas psicológicos, incluindo depressão, estresse, ansiedade, angústia, raiva, medo, insônia e estresse pós-traumático. As mulheres e os enfermeiros foram particularmente afetados pelas consequências na saúde mental, especialmente aqueles que trabalham em contato direto com pacientes por longos períodos, o que pode resultar em fadiga, estresse e ansiedade. No entanto, é necessária mais pesquisa para melhor preparação no futuro (Shaukat, 2020).

Globalmente, a COVID-19 afetou um grande número de profissionais de saúde da linha de frente. Em março de 2020, mais de 3000 profissionais de saúde foram infectados apenas na China. Situações semelhantes foram observadas em surtos anteriores de doença por vírus Ebola (DVE), síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS) e síndrome respiratória aguda grave (SARS). A exposição dos profissionais de saúde a um maior risco de infecção por COVID-19

exacerbou ainda mais a escassez de mão de obra qualificada, e isso fez com que muitos sistemas de saúde e serviços de emergência operassem no limite máximo de sua capacidade (Remuzzi, 2020; Grinnell, 2015; Shalhoub, 2018; Chan-Yeung, 2004; Zhou, 2020; Evans, 2015).

No início de 2021, o Brasil deu início à sua campanha nacional de vacinação contra a COVID-19, distribuindo as primeiras doses enviadas pelo Ministério da Saúde para os estados e o Distrito Federal. Após quase três anos, mais de 585,6 milhões de doses da vacina COVID-19 foram distribuídas por todo o país. Destaca-se que o plano nacional de vacinação incluiu prioritariamente os profissionais de saúde, que estavam na linha de frente do combate à pandemia e tiveram um risco potencial aumentado a partir da exposição ao vírus. Garantir a vacinação desses profissionais foi não apenas importante para proteger esses trabalhadores, mas também contribuiu para a garantia e manutenção dos serviços de saúde e o controle efetivo da disseminação do vírus.

Em Pernambuco, a Universidade Federal de Pernambuco participou como suporte de testagem ao laboratório de referência no Estado. A partir da segunda quinzena de maio, o Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino (Nupit-SG) iniciou a testagem para a COVID-19, realizando mais de 115 mil testes (Pereira, 2021). Todos os profissionais do Nupit-SG envolvidos na testagem foram vacinados ainda em janeiro de 2021, tendo sido, portanto, priorizados devido ao risco de infecção pelo contato próximo com pacientes com suspeita clínica, e pela manipulação das amostras biológicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral:

Avaliar o perfil imunológico dos Linfócitos T/B e de citocinas pró e anti-inflamatórias frente à vacinação contra a COVID-19 em amostras de sangue total de profissionais de saúde do estado de Pernambuco.

3.2 Objetivos específicos:

- Caracterização dos dados sociodemográficos da população de estudo.
- Descrever e analisar as reações adversas apresentadas nos voluntários após vacinação;
- Avaliar infecção prévia pelo SARS-CoV-2 nos profissionais de saúde a partir da detecção de IgG específico, antes da primeira dose da vacina, (T0).
- Determinar os níveis percentuais de linfócitos TCD3, TCD4 e linfócitos B nos profissionais de saúde em todas as coletas.
- Determinar a concentração de citocinas, IL-6, IL-10 e INF- γ , no plasma dos voluntários antes da primeira dose, após a segunda, e após a quarta dose (T0, T2, T5).
- Realizar análise comparativa entre o percentual de linfócitos TCD3, TCD4, e linfócitos B, os níveis de citocinas IL-6, IL-10 e INF- γ nos três momentos pré-selecionados: antes da vacinação, após a segunda e após a quarta dose (T0, T2, T5).

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho do estudo e amostragem

Tratou-se de um estudo prospectivo longitudinal exploratório. Foi adotada uma amostragem não-probabilística (amostra por conveniência), e foram incluídos todos os sujeitos que preencheram os critérios de elegibilidade e que aceitaram participar da pesquisa durante o período destinado à coleta de dados em um total de 23 participantes.

4.2 Local e período do estudo

O estudo foi desenvolvido no Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino (NUPIT-SG) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), onde os ensaios laboratoriais foram realizados. O estudo foi realizado no período de março de 2021 a setembro de 2023.

4.3 Critérios de elegibilidade

4.3.1 Critérios de inclusão

Indivíduos adultos saudáveis com idade entre 18 a 60 anos com indicação para receberem a vacina anti-SARS-CoV-2, e que tenham trabalhado diretamente na testagem da COVID-19, nos setores de coleta, processamento de amostra ou execução do diagnóstico molecular.

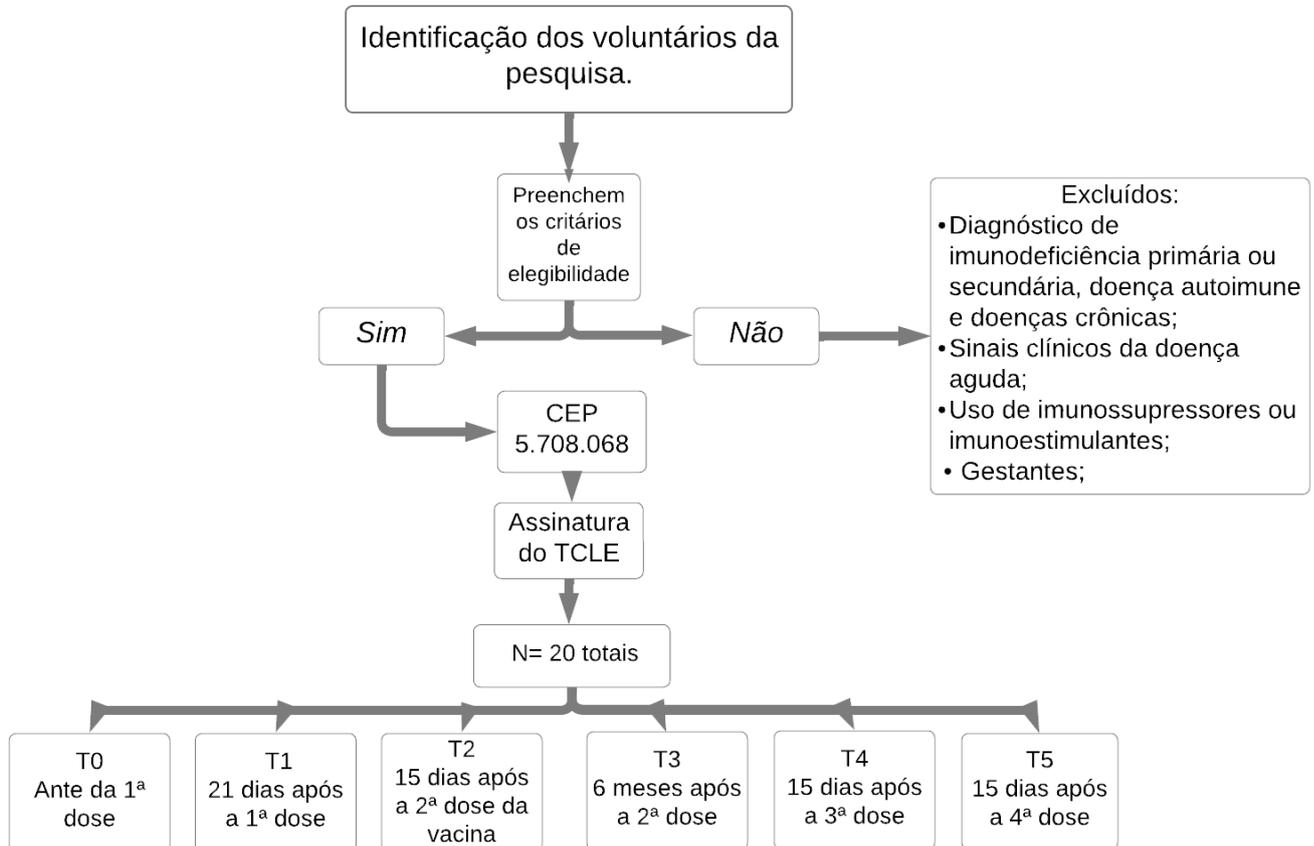
4.3.2 Critérios de exclusão

Sinais clínicos de doença aguda no momento da coleta de sangue periférico; diagnóstico conhecido de imunodeficiência primária ou secundária, doença autoimune e doenças crônicas; Voluntários em uso de terapias imunossupressoras ou imunoestimuladoras; gestantes.

4.4 Procedimento para captação e acompanhamento dos participantes

Os participantes foram inicialmente identificados pelo pesquisador no NUPIT-SG da UFPE. Após verificar o preenchimento dos critérios de elegibilidade, os indivíduos foram convidados a participar da pesquisa por meio da aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE, Apêndice 1). Este documento detalhou os objetivos da pesquisa, os potenciais riscos envolvidos e os momentos previstos para a coleta de dados. As coletas de sangue periférico foram realizadas em seis momentos: antes da primeira dose (T0), 21 dias após a primeira dose (T1), 15 dias após a segunda dose (T2), seis meses após a segunda dose (T3), 15 dias após a terceira dose (T4) e 15 dias após a quarta dose (T5). Somente após o consentimento formal dos participantes, foi realizada a coleta de dados, conforme registrado no Instrumento de Coleta de Dados (Apêndice 2), juntamente com a coleta de sangue periférico (Figura 9).

Figura 10 - Fluxograma de captação, acompanhamento dos participantes e coletas de acordo com o período pós-vacinação.



Fonte: Autoria Própria, 2023.

4.5 Coleta de Dados Sociodemográficos:

Os dados sociodemográficos foram fornecidos através de questionário virtual enviado aos voluntários, conforme anexo 1.

4.6 Aspectos éticos

O presente projeto de pesquisa foi aprovado sob o número de 5.708.068 no comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Pernambuco, além de seguir as Resoluções Éticas Brasileiras, em especial a Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde (Anexo 2).

4.7 Técnicas de coleta e testes laboratoriais

4.7.1 Coleta, processamento e armazenamento das amostras de sangue

Amostras de sangue periférico foram coletadas por profissionais especializados nos seis momentos pré-estabelecidos: T0, T1, T2, T3, T4 e T5. Em cada momento, um volume de 4 mL de sangue foi colhido em tubo com anticoagulante EDTA para realização da imunofenotipagem e separação do plasma, e 9 mL em tubo com anticoagulante heparina para realização da cultura celular. Para obtenção do plasma, o tubo foi centrifugado a 400 x g por cinco minutos e separado em alíquotas e armazenado em criotubos a -80°C, para posterior análise.

4.7.2 Detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2

A detecção qualitativa (negativa ou positiva) de anticorpos humanos da classe IgG para SARS-CoV-2 foi realizada por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) a fim de detectar infecção prévia pelo coronavírus. Foi utilizado o kit Anti-SARS-CoV-2 IgG ELISA (Euroimmun, Alemanha), seguindo as instruções do fabricante, com limite de detecção em razão de log (0,15).

4.7.3 Imunofenotipagem por citometria de fluxo

A imunofenotipagem das populações celulares de sangue periférico foi realizada e a análise foi executada por citometria de fluxo. Alíquotas de 100 µL de sangue periférico foram adicionadas em tubo de poliestireno, e 2 mL de tampão de lise de hemácias (FACS® Lysing Buffer, Becton Dickinson, USA) foram adicionados em cada tubo, e as amostras foram então incubadas por 20 minutos à temperatura ambiente. Em seguida, foram realizadas duas lavagens consecutivas que consistiram na adição de 2 mL de tampão salino-fosfato (*Phosphate Buffered Saline - PBS*) 1x concentrado (pH 7,4) seguida de centrifugação a 400 x g por 5 min a 21 °C. Após a segunda lavagem, foi descartado o sobrenadante e as células foram marcadas com 5µL de anticorpo monoclonal conjugado a fluoróforos: CD4: FITC Antibodies, CD19: PE, CD3: PerCP-Cy5.5 (BD Biosciences). Após a incubação, foi realizada uma última etapa de lavagem e aquisição no citômetro de fluxo FACSAria (BD Biosciences, USA), no qual foram adquiridos 20.000 eventos celulares na região de linfócitos. Os dados obtidos foram analisados com o programa FlowJo (BD Biosciences, USA) e os resultados de linfócitos T, B, foram expressos em valores percentuais.

Quadro 5 – Painel citoflorimétrico utilizado na imunofetipagem por citometria de fluxo.

Anticorpo	Fluorocromo	Clone dos anticorpos	Fabricante
anti-CD3	PerCP-Cy5.5	Clone:RPA-T4	BD Biosciences
anti-CD4	FITC	Clone:HIB19	BD Biosciences
anti-CD19	PE	Clone: UCHT1	BD Biosciences

Fonte: Dados da pesquisa, 2024.

4.7.5 Cultura de células mononucleares do sangue periférico

Após a utilização do protocolo de separação celular descrito previamente, alíquotas de PBMC (1×10^5 céls/mL) foram colocadas em placas de cultura celular de 24 poços e de fundo redondo em meio de cultura *Roswell Park Memorial Institute (RPMI)* suplementado com 10% de soro fetal bovino, 100 U/mL de penicilina, 100 µg de estreptomicina, e 2 mM de L-glutamina (SIGMA, USA). As amostras de células foram cultivadas em triplicatas e estimuladas com o Fitohemaglutinina Purificada (PHA) (SIGMA, USA) na concentração de 10 µg/mL por poço e mantidas a 37 °C em estufa de CO₂ por 24h, sendo acompanhadas por poços de células que não foram estimuladas (basal). Após o período de incubação, os sobrenadantes celulares foram retirados e armazenados em -80 °C para posterior análise.

4.7.6 Determinação da concentração de citocinas, quimiocinas e moléculas anti- e pró-inflamatórias

A concentração de citocinas e quimiocinas e moléculas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias foi determinada em plasma por ELISA, BD OptEIA™ Human ELISA Set ou Human DuoSet® ELISA (R&D), respectivamente, seguindo instruções do fabricante. Foram dosadas as interleucinas IL-6, com faixa de detecção entre 4.7pg/mL e 300pg/mL, IFN-γ, com faixa de detecção entre 4.7pg/mL a 300pg/mL, e IL-10 com faixa de detecção entre 7.8pg/mL e 500pg/mL.

4.7 Análise estatística

Para as análises de distribuições e frequências, foi aplicado o teste do Qui-Quadrado (X^2) ou Exato de Fisher (cálculo de p a partir de teste bicaudal), a depender do tamanho amostral, com nível de significância igual a 5%. Para comparações entre grupos, foi inicialmente aplicado o teste de normalidade de D'Agostino-Pearson, e posteriormente o teste t de Student, quando paramétricos, ou teste de Mann-Whitney, quando não paramétricos. A análise estatística foi realizada utilizando o programa GraphPad Prism v8.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) e foi considerado significativo $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Dados sociodemográficos, clínicos e laboratoriais

Inicialmente, 40 voluntários, previamente identificados em um centro de testagem e diagnóstico da COVID-19 no Recife, foram incorporados ao projeto de pesquisa. O acompanhamento desses voluntários estendeu-se por um período de um ano, durante o qual foram realizadas seis coletas de material biológico (sangue periférico). As coletas ocorreram no tempo inicial (tempo 0), antes da administração da primeira dose da vacina contra o SARS-CoV-2, e se estenderam até 15 dias após a quarta dose da vacina. Entretanto, apenas 20 participantes concluíram integralmente todas as coletas.

A composição de gênero na amostra inicial foi de 35% de homens e 65% de mulheres. A faixa etária dos participantes variou entre 20 e 39 anos, com uma mediana de 29 anos (Tabela 1)

Todos os indivíduos analisados apresentaram pelo menos uma infecção por COVID-19 durante o período de um ano em que foram acompanhados. A maioria (97%) dos voluntários experimentou duas infecções ao longo do estudo.

As vacinas administradas nas quatro doses variaram ao longo do tempo, alinhadas com o calendário de vacinação estabelecido pelo governo federal e a disponibilidade das vacinas. Na primeira e segunda dose, todos os voluntários receberam a vacina CoronaVac (Butantan). A partir da terceira dose, a vacina mais comum foi a Comirnaty (Pfizer/Wyeth), embora também tenham sido administradas a Janssen Vaccine (Janssen-Cilag) e a Astrazeneca/Oxford.

Entre os voluntários que apresentaram reações adversas após a vacinação, a dor local na região da aplicação foi a mais comum (80%), seguida dores no corpo (30%), febre (20%) e dor de cabeça (20%). Destaca-se que nenhum dos voluntários alegou possuir comorbidades (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados Sociodemográficos, Clínicos e Laboratoriais (N amostral de 20 voluntários).

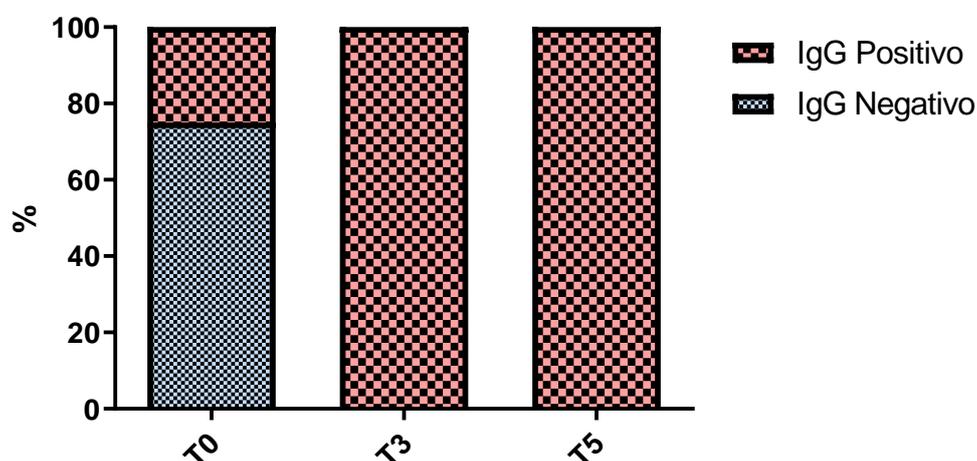
Características	Voluntários
Idade	Média 29,26 Min. 22 / Max. 39 dp 4,93
Gênero	N - %
Feminino	70% (14/20)
Masculino	30% (6/20)
Sintomas	
Febre	20% (4/20)
Dor local na região	80% (16/20)
Dor de cabeça	20% (4/20)
Dor no corpo	30% (6/20)
Não Informado	10% (2/20)
Vacinação (Doses aplicadas)	% - Vacinas - N
1ª Dose	100% - Coronavac (Butantan) (20/20)
2ª Dose	100% - Coronavac (Butantan) (20/20)
3ª Dose	10% - Astrazeneca/Oxford (2/20) 50% - Comirnaty (Pfizer/Wyeth) (10/20) 30% - Coronav (Butantan) (6/20) 10% - Janssen Vaccine (Janssen-Cilag) (2/20)
4ª Dose	75% - Comirnaty (Pfizer/Wyeth) (15/20) 25% - Astrazeneca/Oxford (2/20)

5.2 Análise do IgG anti-SARS-COV-2:

Os resultados da primeira coleta (Tempo 0/antes da 1ª dose da vacina) revelaram que 15 voluntários não apresentaram positividade para IgG contra o SARS-CoV-2, enquanto 5

voluntários testaram positivo, indicando 25% dos voluntários já haviam sido infectados com o novo coronavírus, e, portanto, desenvolveram uma resposta humoral específica contra o vírus (Figura 11). Em análises posteriores, nas coletas T3 e T5, realizadas respectivamente 6 meses após a 2ª dose e 15 dias após a 4ª dose, todos os pacientes demonstraram positividade nos testes. Isso evidencia que 100% dos voluntários desenvolveram sorologia positiva para o IgG anti-SARS-CoV-2 nessas fases subsequentes, o que indica uma resposta humoral desenvolvida a partir das vacinas e/ou infecções.

Figura 11 – Proporção de participantes positivos para sorologia IgG anti-SARS-CoV-2 em diferentes tempos de coleta.

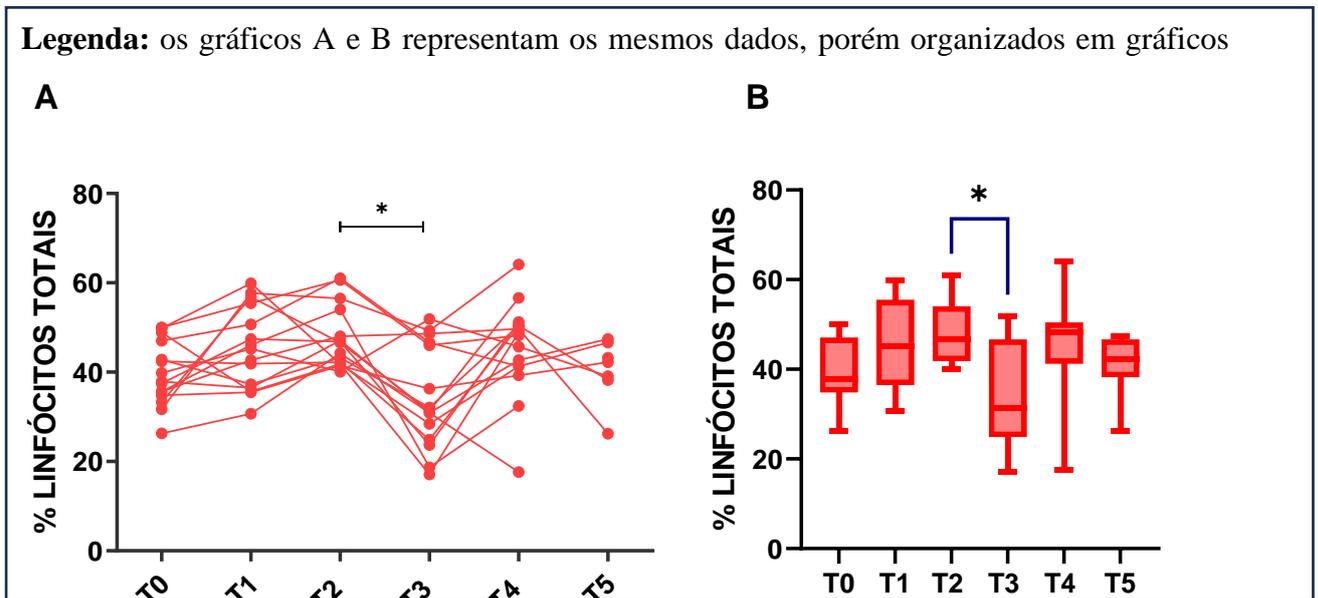


Fonte: Dados da pesquisa, 2024.

5.3 Análise dos Linfócitos por Citometria de Fluxo

Com o objetivo de verificar o impacto das vacinas na porcentagem de linfócitos totais nos 6 tempos distintos, observou-se que não houve uma variação significativa em relação ao T0 (antes da primeira dose) ao longo das doses recebidas posteriormente, com exceção de uma redução significativa entre os tempos T2 (mediana de 46,60%) e T3 (mediana de 31,30%) ($p = 0,0003$), ou seja, após 6 meses da aplicação da 2ª dose vacinal (Figura 12). Em T4 a mediana volta a subir, porém sem diferenças significativas com os outros tempos. Verifica-se que após 15 dias de vacinação da terceira e quarta dose (T4/T5), há um aumento na quantidade de linfócitos totais, mas não foi significativo comparado ao período antes da vacinação (T0).

Figura 12: Variação de percentual de Linfócitos Totais em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.

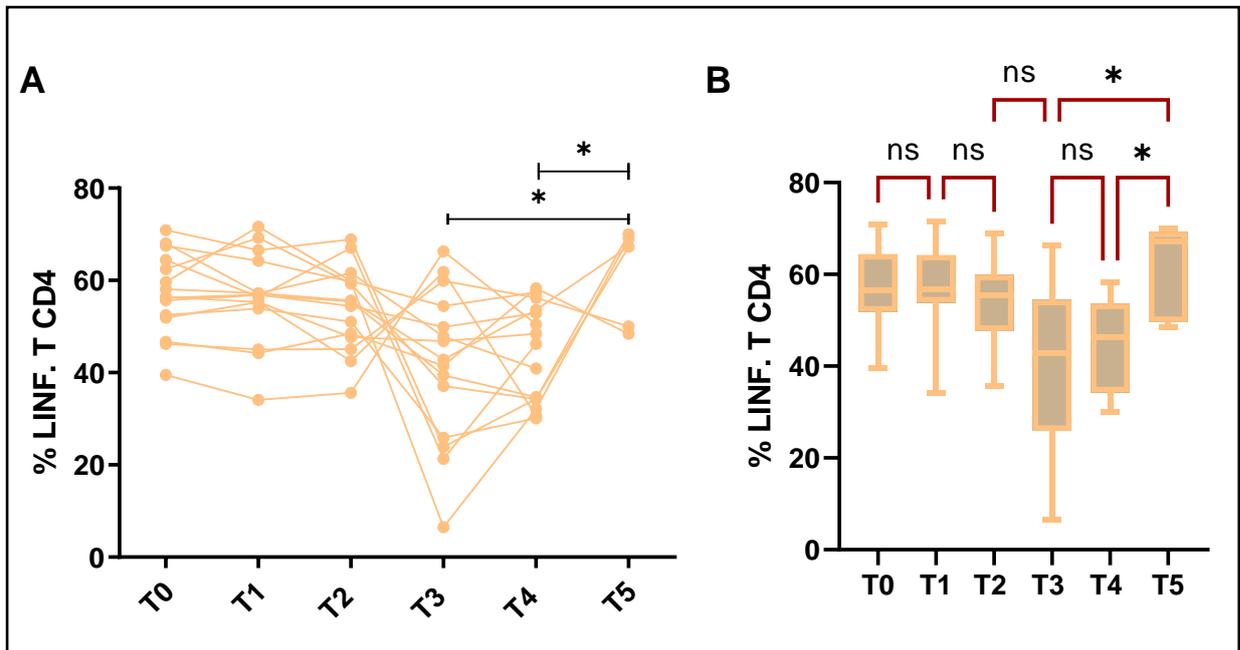


distintos: em A temos um gráfico de linhas e em B um gráfico em *boxplot*. (T0 (tempo 0); T1 (21 dias após a 1ª dose); T2 (15 dias após a 2ª dose); T3 (6 meses após a 2ª dose), T4 (15 dias após a 3ª dose); T5 (15 dias após a 4ª dose). * $p < 0.0003$)

Fonte: Dados da pesquisa, 2024.

Os resultados para os Linfócitos T CD3+ revelam diferenças estatisticamente significativas nas medianas em diversos tempos: entre T0 (mediana = 76.9%) e T3 (mediana = 39.5%) ($p < 0,0001$), ou seja, 6 meses após a 2ª dose; entre T0 (mediana = 76,9%) e T4 (mediana = 44.7%) ($p = 0,0001$); entre T2 (mediana = 72.3%) e T3 (mediana = 39.5%) ($p < 0,0001$); entre T2 (mediana = 72.3%) e T4 (mediana = 44.7%) ($p = 0,0001$) (Figura 12). É importante destacar que a quantidade de linfócitos T CD3+ aumentou após 15 dias da aplicação da terceira (T4) e quarta dose(T5), comparado ao T3, mas não foi significativo (Figura 13).

Figura 14 – Variação de percentual de Linfócitos T CD4+ em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.

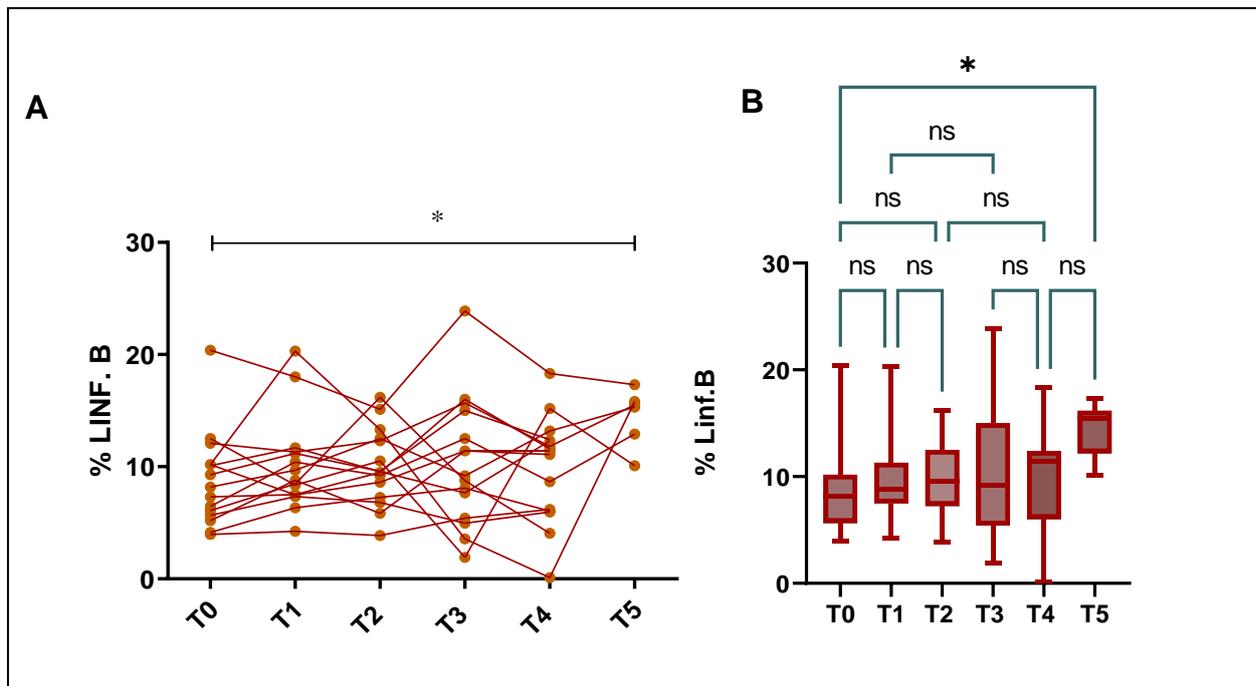


Legenda: os gráficos A e B representam os mesmos dados, porém organizados em gráficos distintos: em A temos um gráfico de linhas e em B um gráfico em *boxplot*. * (T0 (tempo 0); T1 (21 dias após a 1ª dose); T2 (15 dias após a 2ª dose); T3 (6 meses após a 2ª dose), T4 (15 dias após a 3ª dose); T5 (15 dias após a 4ª dose).

Fonte: Dados da pesquisa, 2024.

Os resultados para os Linfócitos B indicam uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos T0 (mediana de 8.1%) e T5 (mediana de 15.4%) com valor de $p = 0,0050$, ou seja, variação significativa entre o período antes da aplicação da 1ª dose e 15 dias após a quarta dose. Todas as outras comparações não mostraram diferenças estatisticamente significativas nas medianas entre os tempos avaliados, ainda que seja observado um aumento discreto e gradativo das medianas até T5. Os resultados sugerem que há uma resposta humoral, ainda que discreta, e que pode ser consequência do estímulo antigênico vacinal, mas também ser o resultado do contato com o vírus após infecções (Figura 15).

Figura 15 - Variação de percentual de Linfócitos B em profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.



Legenda: os gráficos A e B representam os mesmos dados, porém organizados em gráficos distintos: em A temos um gráfico de linhas e em B um gráfico em *boxplot*. * (T0 (tempo 0); T1 (21 dias após a 1ª dose); T2 (15 dias após a 2ª dose); T3 (6 meses após a 2ª dose), T4 (15 dias após a 3ª dose); T5 (15 dias após a 4ª dose).

Fonte: Dados da pesquisa, 2024.

5.4 Análise das Interleucinas IL-6, INF γ e IL-10.

Os testes estatísticos realizados revelaram que não houve diferenças significativas entre os tempos analisados para as três interleucinas testadas, IL-6, IL-10 e IFN- γ . Observaram-se variações discretas entre as três coletas (T0, T2 e T5). Em relação à IL-6, e comparando-se as médias, verificou-se um aumento discreto nos níveis dessa interleucina no tempo T2 (média de 978,6pg/mL) quando comparado com o T0 (média de 794,1pg/mL) e o T5 (média de 513,6pg/mL) (Figura 16 A), com alta variabilidade individual, conforme evidenciado nos resultados (Figura 16 B).

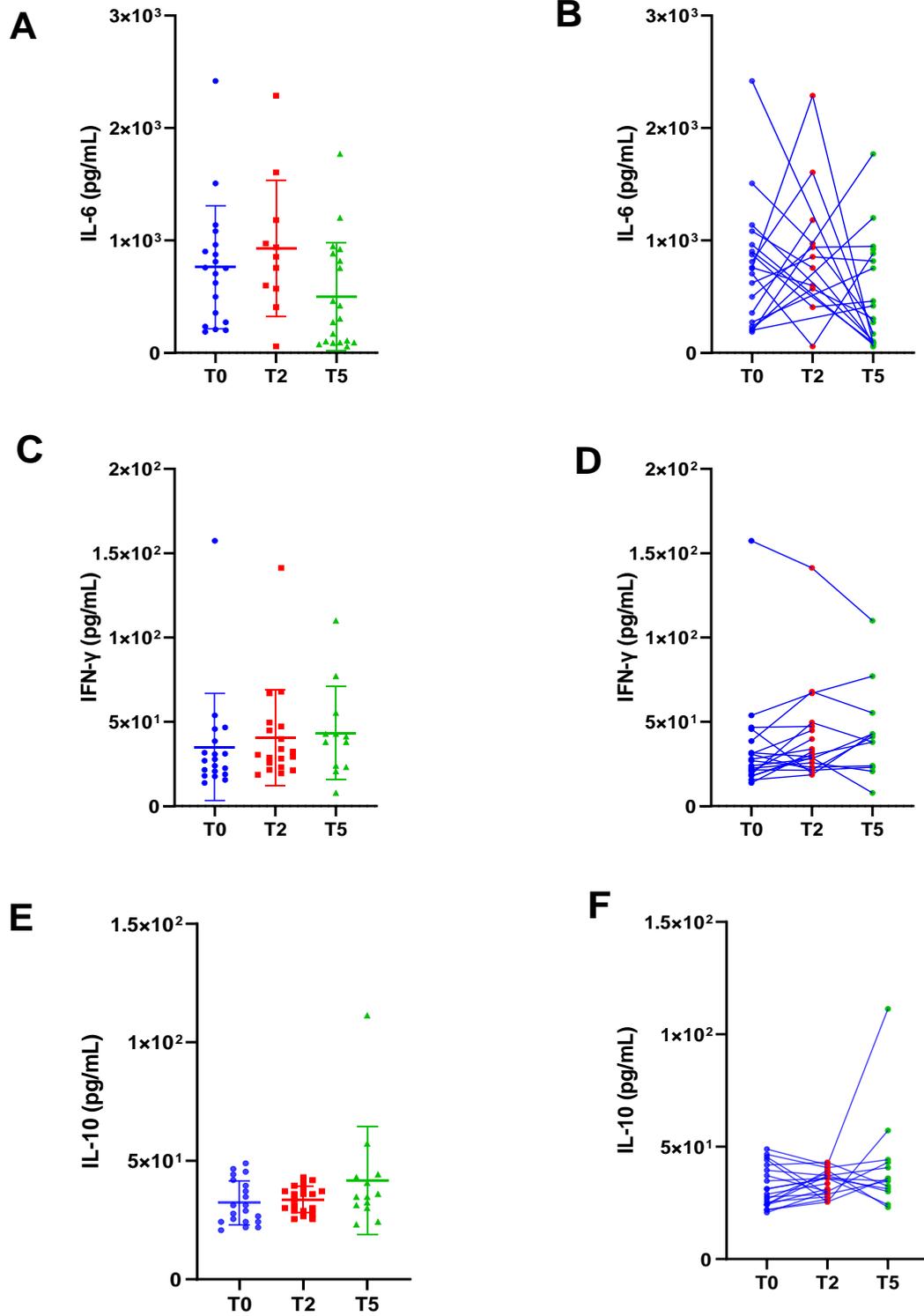
Quanto à IFN- γ , embora os testes estatísticos não tenham detectado diferenças significativas entre as coletas T0 (média de 32,5pg/mL), T3 (média de 33,7pg/mL) e T5 (média de 41,7pg/mL), foi observado um aumento gradual nos níveis dessa interleucina nos indivíduos

acompanhados, ao se observar a média (Figura 16 C). A variação individual observada para IFN- γ é baixa, o oposto ao que se observou para a IL-6. (Figura 16 D).

Com relação a IL-10, também não ocorreram diferenças significativas entre os tempos. Apesar da variação da média ter um pequeno aumento ao longo dos tempos analisados (T0 média de 34.3pg/mL; T2 média de 38.7ug/mL; T5 média de 42.2pg/mL) (Figura 16 E). A variação individual mostrou-se baixa, assim como IFN- γ (Figura 16 F).

Esses achados sugerem que, embora não tenham sido identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de coleta, as análises de variação individual revelam padrões diferentes de mudança nos níveis de IL-6, IL-10 e IFN- γ ao longo do tempo, destacando a importância de uma análise detalhada das variações individuais e tendências gerais nos dados.

Figura 16 – Dosagem das Interleucinas IL-6, IFN- γ e IL-10 em amostras de sangue total de profissionais de saúde em diferentes períodos após doses vacinais contra a COVID-19.



Legenda: * T0 (tempo 0); T2 (15 dias após a segunda dose); T5 (15 dias após a 4^a dose).

6 DISCUSSÃO

Os dados sociodemográficos dos participantes desta pesquisa foram coletados no início do estudo e fornecem uma visão abrangente do perfil dos voluntários envolvidos. A amostra inicial foi composta por 40 voluntários, previamente identificados em um centro de testagem e diagnóstico da COVID-19 no Recife. No entanto, ao longo do período de acompanhamento de um ano, apenas 20 participantes completaram integralmente todas as coletas de dados.

Os participantes foram em sua maioria mulheres e a faixa de idade média em todos os participantes foi de 29 anos, sendo uma faixa etária relativamente jovem, em consonância com a população de profissionais de saúde, que foi um grupo prioritário para vacinação em programas de imunização. Destaca-se que todos os indivíduos analisados apresentaram pelo menos uma infecção por COVID-19 durante o período de um ano em que foram acompanhados, com a maioria (97%) experimentando duas infecções ao longo do estudo.

Acrescenta-se ainda que a distribuição das vacinas administradas ao longo do estudo, reflete a dinâmica da vacinação contra a COVID-19 no país, com diferentes vacinas sendo utilizadas em momentos distintos, consonância com o calendário de vacinação estabelecido pelo governo federal e a disponibilidade dos imunizantes. Na primeira e segunda dose, todos os voluntários receberam a vacina CoronaVac (Butantan), enquanto a partir da terceira dose, houve uma diversificação das vacinas administradas, incluindo Comirnaty (Pfizer/Wyeth), Janssen Vaccine (Janssen-Cilag) e Astrazeneca/Oxford (MS, 2021; Maciel, 2022). As infecções por SARS-CoV-2 ao longo das coletas, somadas à heterogeneidade das vacinas recebidas pelos voluntários tornam o cenário imunológico a ser investigado ainda mais complexo.

Destaca-se que, entre os voluntários que apresentaram reações adversas após a vacinação, a dor local na região da aplicação foi a mais comum (80%), seguida de dores no corpo (30%), febre (20%) e dor de cabeça (20%). É relevante observar que nenhum dos voluntários relatou possuir comorbidades, o que pode influenciar a resposta imunológica à vacinação e os desfechos clínicos associados à infecção por COVID-19. O principal achado de estudos com relação às reações adversas é que estes também indicam a dor local na região da vacina após a sua aplicação como reação mais comum (Mirnia, 2024; Sinaei, 2024).

No presente estudo foi observada uma variação no quantitativo de linfócitos totais ao longo do processo de vacinação. Após a administração inicial, houve um aumento, ainda que não significativo, porém indicando uma variação no quantitativo de células e possivelmente na memória imunológica. No entanto, logo após a segunda dose (T2), percebe-se que a mediana

se manteve praticamente igual, diminuindo significativamente após seis meses da segunda dose (T3), indicando uma queda nos linfócitos e evidenciando a importância do reforço. Após a terceira dose (T4), a mediana volta a subir, se mantendo após a 4ª dose, indicando uma possível consolidação da resposta imunológica após a dose de reforço (Li, 2021; Souza-Silva, 2022; Nuñez, 2023). A variação notável no percentual de linfócitos totais ao longo das seis coletas pode indicar uma dinâmica complexa entre os linfócitos e outros elementos da resposta imune.

Ao se analisar especificamente os linfócitos T (CD3+), percebe-se um padrão similar de variação, comparado aos linfócitos totais, porém com reduções mais acentuadas e estatisticamente significativas, quando se compara a coleta antes da vacinação com a coleta realizada seis meses após a segunda dose (T3) e 15 dias após a terceira dose (T4). Isto pode indicar que a redução entre doses ocorre mais especificamente com os linfócitos T.

Com relação aos linfócitos T CD4+ analisados pela presente pesquisa, foi notada uma estabilidade inicial durante as três primeiras doses, o que pode indicar que a resposta imunológica não estimulou significativamente este subtipo de linfócito nesse período. Contudo, após seis meses da administração da segunda dose, observou-se um decréscimo, ainda que não significativo, no quantitativo dessas células. Essa diminuição, que também foi demonstrada no gráfico dos linfócitos T CD3+, sugeriu uma redução em resposta ao tempo transcorrido após a segunda dose de reforço (seis meses). No entanto, após a aplicação da dose de reforço (quarta dose – T5), registrou-se uma recuperação notável no número de linfócitos T CD4+, com uma mediana maior dos percentuais em relação à T0, porém sem diferença significativa. Estes dados apontam para a capacidade da dose adicional em reforçar a resposta imunológica, já descrita anteriormente em outros estudos.

O fato de 25% dos participantes já terem tido COVID-19 no momento T0 (positividade para IgG) pode ter influenciado nas análises dos linfócitos, pois para uma parte da coorte uma resposta imunológica já havia sido estimulada com antígenos virais oriundos da infecção. Incluir apenas indivíduos que não haviam tido contato com o SARS-CoV-2 seria o mais adequado para as análises propostas, porém seria no mínimo desafiados encontrar apenas profissionais da saúde que não tinham contraído a COVID-19 naquele momento da pandemia.

No estudo de Isla-Vazquez e colaboradores (2022), também foi avaliado o perfil de linfócitos em uma amostra de 69 voluntários, dos quais 34 participantes ainda não estavam vacinados e 35 já haviam recebido a primeira dose da vacina. Nesta análise, que utilizou métodos semelhantes ao presente estudo, foi demonstrado que o desenvolvimento de resposta imune adaptativa, englobando anticorpos neutralizantes e linfócitos B e T, é crucial para controlar e eliminar infecções virais. Foi relatado que os indivíduos infectados com SARS-

CoV-2 desenvolvem um título de anticorpos cerca de 15 dias após o início dos sintomas. Sabe-se que o título de anticorpos diminui ao longo do tempo. (Chen et al. 2022; Havervall, 2022; Fidler, 2023).

Neste estudo, observou-se um aumento progressivo nos linfócitos B, embora a significância estatística tenha sido limitada devido, possivelmente, ao tamanho da amostra. Destaca-se a manutenção do potencial imunológico de memória por parte dos linfócitos B, indicando uma resposta duradoura do sistema imunológico. A proporção de células B específicas foi considerada um indicador do potencial de proteção imunitária, especialmente nos primeiros 6 meses após a vacinação. Em estudos sobre o papel dos linfócitos B na COVID-19, analisados por Mansourabadi (2023), relatou que, em geral, a proteção resultante da memória imunológica contra o coronavírus não consegue persistir por muito tempo ou impedir a reinfecção. Vários estudos foram realizados sobre a avaliação das respostas imunes de memória na reinfecção por COVID-19. Contudo, o reforço da imunização demonstrou fortalecer a memória imunitária existente (Chen, 2022).

A análise das interleucinas IL-6, INF γ e IL-10 desempenha um papel fundamental na compreensão da resposta imunológica após a vacinação contra a COVID-19. Contudo, os resultados da análise dessas interleucinas não revelaram diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de coleta, indicando uma estabilidade relativa nas concentrações ao longo do tempo. No entanto, foram observadas variações discretas nas concentrações das interleucinas em diferentes momentos após a vacinação.

Em relação à IL-6, observou-se um aumento discreto nos níveis dessa interleucina no tempo T2, sugerindo uma possível resposta inflamatória aguda após a vacinação. Embora essa diferença não tenha alcançado significância estatística, a alta variabilidade individual dos resultados indica uma heterogeneidade na resposta imunológica entre os participantes. Quanto à INF γ , embora não tenham sido identificadas diferenças significativas entre os tempos de coleta, foi observado um aumento gradual nos níveis dessa interleucina ao longo do acompanhamento dos participantes. Esse aumento sugere uma possível intensificação da resposta imune mediada por células T. Com relação à IL-10, também não foram encontradas diferenças significativas entre os tempos de coleta. No entanto, a estabilidade das concentrações dessa interleucina ao longo do tempo sugere uma regulação relativamente constante da resposta imune anti-inflamatória (Ponciano-Gómez, 2022; Zalewska, 2022; Bahrini, 2023; Familiar-Macedo, 2023; Nery, 2024).

Ainda que em alguns estudos anteriores tenham sugerido uma relação entre essas variações e a administração de doses vacinais, os nossos achados não corroboram de forma

satisfatória com essas conclusões. É importante ressaltar que a falta de significância estatística em nossos resultados pode ser atribuída a diversos fatores, como o tamanho da amostra, a variabilidade individual dos participantes e a complexidade da resposta imune humana. Portanto, embora não tenhamos alcançado os mesmos achados relacionados às doses vacinais observados em outros estudos, nossa análise fornece outra perspectiva de análise sobre a dinâmica da resposta imune à vacinação contra a COVID-19.

Apontamos como limitações a reduzida amostragem de voluntários, decorrente da desistência inicial de alguns dos participantes selecionados, o que restringiu a abrangência originalmente proposta pelo projeto. Contudo, destacamos como aspecto positivo do estudo as análises realizadas ao longo de um período de um ano, acompanhando os voluntários após cada dose vacinal. Ressalta-se ainda que esses voluntários eram profissionais que atuavam em um centro de testagem crucial durante a pandemia da COVID-19 e os programas de imunizações para estes profissionais da linha de frente são essenciais para manutenção da prevenção contra casos graves da doença.

7 CONCLUSÃO

Ao concluir a avaliação do perfil imunológico das células T e B, alcançamos resultados que trazem uma perspectiva diferente de avaliação do que foi e vem sendo feito pelos pesquisadores ao longo dos anos de estudo, especialmente no grupo de profissionais de saúde no Brasil. Inicialmente, determinamos os níveis percentuais de linfócitos T e B, observando variações significativas nas células T e fornecendo uma visão da complexa dinâmica imunológica pós-vacinação.

Ao descrever os dados sociodemográficos foi demonstrado que a maioria dos voluntários da pesquisa foram mulheres, sem quaisquer comorbidades de idade entre 18 e 40 anos, que apresentaram pela menos uma infecção de COVID-19 ao longo do período do estudo, porém mais de uma infecção demonstrou ser frequente. Desse modo, foi possível obter informações detalhadas sobre as características sociodemográficas desses indivíduos, proporcionando uma visão abrangente do contexto em que o estudo foi conduzido.

Além disso, a análise das reações adversas apresentadas pelos voluntários após a vacinação contribuiu para a compreensão dos potenciais efeitos colaterais associados à imunização contra a COVID-19 nesse grupo específico de profissionais de saúde.

A detecção do IgG específico antes da primeira dose da vacina, para avaliação da infecção prévia pelo SARS-CoV-2, permitiu avaliar a ocorrência de infecções prévias pelo SARS-CoV-2 entre os profissionais de saúde, fornecendo percepções importantes sobre a exposição prévia ao vírus.

A determinação dos níveis percentuais das células TCD3 e TCD4 e das células B, células com perfil imunológico, proporcionou uma avaliação detalhada da resposta imune dos profissionais de saúde ao longo das diferentes fases da vacinação. Especialmente, as células T apresentaram variação significativa em alguns períodos analisados e os tempos entre doses, o que possibilitou outra abordagem de análise e outros elementos de discussão a respeito da dinâmica celular pós-vacinação.

A análise da concentração de citocinas pró e anti-inflamatórias, como IL-6, IL-10 e INF- γ , antes da primeira dose, após a segunda dose e após a quarta dose da vacina, permitiu acompanhar a evolução da resposta imune ao longo do tempo. Apesar de não haver significância, os resultados podem demonstrar que a variação da concentração de citocinas sofre influência da vacinação e das suas configurações.

A análise comparativa entre os diferentes momentos pré-selecionados (T0, T2, T5) possibilitou identificar padrões e tendências na resposta imunológica dos profissionais de saúde em relação à vacinação contra a COVID-19, fornecendo elementos para futuras pesquisas e intervenções na área da saúde pública.

8 REFERÊNCIAS

1. Boechat, Thamina et al. Evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: A global health emergency. **Science of the Total Environment**, v. 730, p. 138996, 2020.
2. AMANNA, Ian J.; CARLSON, Nichole E.; SLIFKA, Mark K. Duration of humoral immunity to common viral and vaccine antigens. **New England Journal of Medicine**, v. 357, n. 19, p. 1903-1915, 2007.
3. BAHRINI, Khadija et al. Immune Cell Response during COVID-19 Infection and following SARS-CoV-2 Vaccination in Patients Admitted to Intensive Care Unit. **Journal of Immunology Research**, v. 2023, 2023.
4. BAROUCH, Dan H. COVID-19 vaccines—immunity, variants, boosters. **New England Journal of Medicine**, v. 387, n. 11, p. 1011-1020, 2022.
5. BITENCOURT, Fernando Valentim et al. Prevalence of SARS-CoV-2 infection among oral health care workers worldwide: A meta-analysis. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 51, n. 5, p. 718-728, 2023.
6. BJORGEN, Jacob C. et al. NK cell subsets and dysfunction during viral infection: a new avenue for therapeutics?. **Frontiers in immunology**, v. 14, 2023.
7. BOECHAT, José Laerte et al. The immune response to SARS-CoV-2 and COVID-19 immunopathology—current perspectives. **Pulmonology**, v. 27, n. 5, p. 423-437, 2021.
8. C. Wang, W. Li, D. Drabek, N.M.A. Okba, H.R. Van, A.D.M.E. Osterhaus, F.J. M. Van Kuppeveld, B.L. Haagmans, F. Grosveld, B.J. Bosch, A human monoclonal antibody blocking SARS-CoV-2 infection, **Nat. Commun.** 11 (2020) 2251.
9. CALINA, Daniela et al. Towards effective COVID-19 vaccines: Updates, perspectives and challenges. **International journal of molecular medicine**, v. 46, n. 1, p. 3-16, 2020.
10. CDC COVID-19 RESPONSE TEAM et al. Characteristics of health care personnel with COVID-19—United States, February 12–April 9, 2020. **Morbidity and mortality weekly report**, v. 69, n. 15, p. 477-481, 2020.
11. CDC. 2019 Novo Corona vírus, Wuhan, China. CDC. [Citado em 13 de setembro de 2023]. Disponível em: <https://www.cdc.gov/corona-virus/2019-ncov/about/index.html>
12. CENTRO DE INFORMAÇÕES ESTRATÉGICAS DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE (CIEVS-PE)/SEVS/SES-PE. Disponível em: [3293a8_88c56ce8a2c44a1eb99290e69dbdcd65.pdf \(cievspe.com\)](https://cievspe.com/3293a8_88c56ce8a2c44a1eb99290e69dbdcd65.pdf). Último acesso em 13/09/2023.
13. CHAVDA, Vivek P. et al. Replicating viral vector-based vaccines for COVID-19: potential avenue in vaccination arena. **Viruses**, v. 14, n. 4, p. 759, 2022.

14. CHEN, Nanshan et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *The Lancet*, [S.L.], v. 395, n. 10223, p. 507-513, fev. 2020. **Elsevier BV**. [http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30211-7](http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30211-7).
15. CHEN, Shiru et al. The role of B cells in COVID-19 infection and vaccination. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 988536, 2022.
16. CHEN, Yu; LIU, Qianyun; GUO, Deyin. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 418-423, 2020.
17. CHEN, Yuxin et al. Dynamic SARS-CoV-2-specific B-cell and T-cell responses following immunization with an inactivated COVID-19 vaccine. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 28, n. 3, p. 410-418, 2022.
18. CHROBOCZEK, Jadwiga; SZURGOT, Inga; SZOLAJSKA, Ewa. Virus-like particles as vaccine. **Acta Biochimica Polonica**, v. 61, n. 3, 2014.
19. COLEMAN CM, FRIEMAN MB. Emergence of the Middle East respiratory syndrome coronavirus. **PLoS Pathog**. 2013; 9: e1003595.
20. CREECH, C. Buddy; WALKER, Shannon C.; SAMUELS, Robert J. SARS-CoV-2 vaccines. **Jama**, v. 325, n. 13, p. 1318-1320, 2021.
21. DAN, Jennifer M. et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. **Science**, v. 371, n. 6529, p. eabf4063, 2021.
22. DEB, Bijayeeta; SHAH, Hemal; GOEL, Suchi. Current global vaccine and drug efforts against COVID-19: pros and cons of bypassing animal trials. **Journal Of Biosciences**, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 01-10, 12 jun. 2020.
23. EMA, Jcovden (previously COVID-19 Vaccine Janssen) | European Medicines Agency (europa.eu). Acessado em 27 de setembro de 2023.
24. EVANS, David K.; GOLDSTEIN, Markus; POPOVA, Anna. Health-care worker mortality and the legacy of the Ebola epidemic. **The Lancet Global Health**, v. 3, n. 8, p. e439-e440, 2015.
25. FAMILIAR-MACEDO, Débora et al. Inflammatory and cytotoxic mediators in COVID-19 patients and in ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine recipients. **Cytokine**, v. 171, p. 156350, 2023.
26. FERNANDES, Bárbara et al. Insect cells for high-yield production of SARS-CoV-2 spike protein: Building a virosome-based COVID-19 vaccine candidate. **Pharmaceutics**, v. 14, n. 4, p. 854, 2022.

27. FERRARO, Bernadette et al. Clinical applications of DNA vaccines: current progress. **Clinical infectious diseases**, v. 53, n. 3, p. 296-302, 2011.
28. FIDLER, Sarah et al. Booster vaccination against SARS-CoV-2 induces potent immune responses in people with human immunodeficiency virus. **Clinical Infectious Diseases**, v. 76, n. 2, p. 201-209, 2023.
29. GAEBLER, Christian et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. **Nature**, v. 591, n. 7851, p. 639-644, 2021.
30. GALIPEAU, Yannick et al. Humoral responses and serological assays in SARS-CoV-2 infections. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 610688, 2020.
31. GAO H, YAO H, YANG S, LI L. From SARS to MERS: evidence and speculation. **Front Med**. 2016; 10: 377-82.
32. GARCÍA-SASTRE, Adolfo. Ten strategies of interferon evasion by viruses. **Cell host & microbe**, v. 22, n. 2, p. 176-184, 2017.
33. GIOVANETTI, Marta et al. Epidemic history and evolution of an emerging threat of international concern, the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. **Journal of Medical Virology**, v. 95, n. 8, p. e29012, 2023.
34. GOŁAB, J.; JAKÓBISIAK, M. Immunologia; PWN: Warsaw, Poland, 2008; pp. 305–342.
35. GÓMEZ-OCHOA, S. A. *et al.* COVID-19 in Health-Care Workers: A Living Systematic Review and Meta-Analysis of Prevalence, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes. United States: **American journal of epidemiology**, 4 jan. 2021. v. 190, n. 1, p. 161–175.
36. GRIFONI, Alba et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. **Cell**, v. 181, n. 7, p. 1489-1501. e15, 2020.
37. GRINNELL, Margaret et al. Ebola virus disease in health care workers—Guinea, 2014. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, v. 64, n. 38, p. 1083-1087, 2015.
38. GUO, Tao et al. Cardiovascular Implications of Fatal Outcomes of Patients With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Jama Cardiology*, [S.L.], v. 5, n. 7, p. 811, 1 jul. 2020. **American Medical Association (AMA)**. <http://dx.doi.org/10.1001/jamacardio.2020.1017>.
39. GUZIK, Tomasz J et al. COVID-19 and the cardiovascular system: implications for risk assessment, diagnosis, and treatment options. *Cardiovascular Research*, [S.L.], v. 116, n. 10, p. 1666-1687, 30 abr. 2020. **Oxford University Press (OUP)**. <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvaa106>.

40. HAMMING, I; TIMENS, W; BULTHUIS, M.L; LELY, A.T; NAVIS, G; VAN GOOR, H. Tissue distribution of ECA-2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **J Pathol**, v. 203, n. 2, 2004.
41. HAVERVALL, Sebastian et al. Impact of SARS-CoV-2 infection on vaccine-induced immune responses over time. **Clinical & Translational Immunology**, v. 11, n. 4, p. e1388, 2022.
42. HE, Feng; DENG, Yu; LI, Weina. Coronavirus disease 2019: What we know?. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 7, p. 719-725, 2020.
43. HERRERA, Lara et al. Identifying SARS-CoV-2 'memory' NK cells from COVID-19 convalescent donors for adoptive cell therapy. **Immunology**, v. 165, n. 2, p. 234-249, 2022.
44. HILGENFELD R, PEIRIS M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. **Antiviral Res.** 2013; 100: 286-95
45. HILI, Fang. Evidence for a common evolutionary origin of coronavirus spike protein receptor-binding subunits. **Journal of virology**, v. 86, n. 5, p. 2856-2858, 2012.
46. HUANG C, WANG Y, LI X, REN L, ZHAO J, HU Y, ET AL. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**. 2020.
47. HUȚANU, Adina et al. Dynamic evaluation of natural killer cells subpopulations in COVID-19 patients. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 19, p. 11875, 2022.
48. ISLAS-VAZQUEZ, Lorenzo et al. Effector-memory B-lymphocytes and follicular helper T-lymphocytes as central players in the immune response in vaccinated and nonvaccinated populations against SARS-CoV-2. **Vaccines**, v. 10, n. 10, p. 1761, 2022.
49. JI W, Wang W, Zhao X, et al. Transmissão entre espécies do coronavírus recém-identificado 2019-nCoV . **J Med Virol**. 2020; 92 (4): 433 - 440.
50. JONES, Ian; ROY, Polly. Sputnik V COVID-19 vaccine candidate appears safe and effective. **The Lancet**, v. 397, n. 10275, p. 642-643, 2021.
51. JOSHI, Gaurav et al. Exploring the COVID-19 vaccine candidates against SARS-CoV-2 and its variants: where do we stand and where do we go?. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 17, n. 12, p. 4714-4740, 2021.
52. KANNAN, S. et al. Protein in SARS-CoV-1, SARS-CoV-2, MERS-CoV, and bat coronavirus. **J Pure Appl Microbiol**, v. 14, n. suppl 1, p. 757-763, 2020.
53. KHALIL, Bariaa A.; ELEMAM, Noha Mousaad; MAGHAZACHI, Azzam A. Chemokines and chemokine receptors during COVID-19 infection. **Computational and structural biotechnology journal**, v. 19, p. 976-988, 2021.

54. KHALIL, Omar Arafat Kdudsi; DA SILVA KHALIL, Sara. SARS-CoV-2: taxonomia, origem e constituição. **Revista de Medicina**, v. 99, n. 5, p. 473-479, 2020.
55. KRIZ, Carey; IMAM, Naiyer; ZAIDI, Sarah. Breaking Down COVID-19: The COVID-19 Living Textbook. **Publication of First Medicine and Global Clinical Partners**. 16 de novembro de 2020. Disponível em: <https://thecompassforsbc.org/sbcc-tools/breaking-down-COVID-19-COVID-19-living-textbook>.
56. KUMAR, Sunny et al. COVID-19: Clinical status of vaccine development to date. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 89, n. 1, p. 114-149, 2023.
57. KUMAR, Swatantra et al. Morphology, genome organization, replication, and pathogenesis of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). In: *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)*. **Springer**, Singapore, 2020. p. 23-31.
58. LATIFI-PUPOVCI, Hatixhe. Molecular mechanisms involved in pathogenicity of SARS-CoV-2: Immune evasion and implications for therapeutic strategies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, p. 113368, 2022.
59. LI B, Qun et al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus–infected pneumonia. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 13, p. 1199-1207, 2020.
60. LI HU, Ben et al. Discovery of a rich gene pool of bat SARS-related coronaviruses provides new insights into the origin of SARS coronavirus. **PLoS pathogens**, v. 13, n. 11, p. e1006698, 2017.
61. LI, Fang et al. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. **Science**, v. 309, n. 5742, p. 1864-1868, 2005.
62. LI, Juan et al. The emergence, genomic diversity and global spread of SARS-CoV-2. **Nature**, v. 600, n. 7889, p. 408-418, 2021.
63. LI, Qing et al. Immune response in COVID-19: what is next?. **Cell Death & Differentiation**, v. 29, n. 6, p. 1107-1122, 2022.
64. LI, Tian-Cheng et al. Expression and self-assembly of empty virus-like particles of hepatitis E virus. **Journal of virology**, v. 71, n. 10, p. 7207-7213, 1997.
65. LI, Ziwei et al. Characterization of SARS-CoV-2-Specific humoral and cellular immune responses induced by inactivated COVID-19 vaccines in a real-world setting. **Frontiers in immunology**, v. 12, p. 802858, 2021.
66. LIM, Siew Pheng. Targeting SARS-CoV-2 and host cell receptor interactions. **Antiviral Research**, p. 105514, 2022.

67. LIPPI, Giuseppe; PLEBANI, Mario. Cytokine “storm”, cytokine “breeze”, or both in COVID-19?. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 59, n. 4, p. 637-639, 2021.
68. LONG, Quan-Xin et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. **Nature medicine**, v. 26, n. 8, p. 1200-1204, 2020.
69. MACIEL, Ethel et al. The SARS-CoV-2 vaccination campaign in Brazil and the invisibility of science evidences. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 27, p. 951-956, 2022.
70. MADJID M, SAFAVI-NAEINI P, SOLOMON SD, et al. Efeitos potenciais dos corona vírus no sistema cardiovascular: uma revisão. **JAMA Cardiol.** 2020;5(7):831–840.
71. MALENGIER-DEVLIES, Bert et al. Severe COVID-19 patients display hyper-activated NK cells and NK cell-platelet aggregates. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 861251, 2022.
72. MALLAPATY, Smriti. India’s Dna Covid Vaccine Is A First—more Are Coming. **Nature**, v. 597, p. 161, 2021.
73. 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.
74. MANTOVANI, Alberto et al. Interleukin-1 and related cytokines in the regulation of inflammation and immunity. **Immunity**, v. 50, n. 4, p. 778-795, 2019.
75. MAUCOURANT, Christopher et al. Natural killer cell immunotypes related to COVID-19 disease severity. **Science immunology**, v. 5, n. 50, p. eabd6832, 2020.
76. MENDONÇA, Samir Andrade et al. Adenoviral vector vaccine platforms in the SARS-CoV-2 pandemic. **npj Vaccines**, v. 6, n. 1, p. 97, 2021.
77. MENENDEZ-ARIAS, L., DELGADO, R., 2022. Update and latest advances in antiretroviral therapy. **Trends Pharmacol. Sci.** 43, 16. [https://doi: 10.1016/j.tips.2021.10.004](https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.10.004).
78. MERKULEVA, Iuliia A. et al. Comparative immunogenicity of the recombinant receptor-binding domain of protein S SARS-CoV-2 obtained in prokaryotic and mammalian expression systems. **Vaccines**, v. 10, n. 1, p. 96, 2022.
79. MIDDLETON, Elizabeth A. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. **Blood, The Journal of the American Society of Hematology**, v. 136, n. 10, p. 1169-1179, 2020.
80. Ministério da Saúde. Plano Nacional de Operacionalização da Vacinação contra COVID-19. 11ª ed. Brasília, 2021c. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/publicacoes-tecnicas/guias-e-planos/plano-nacional-de-vacinacao-covid-19/view>. Acesso em: 04 Fev 2024.

81. MIRNIA, Kayvan et al. Short-term side effects of COVID-19 vaccines among healthcare workers: a multicenter study in Iran. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 4086, 2024.
82. MOHAMMADI, Mehrdad; SHAYESTEHPOUR, Mohammad; MIRZAEI, Hamed. The impact of spike mutated variants of SARS-CoV2 [Alpha, Beta, Gamma, Delta, and Lambda] on the efficacy of subunit recombinant vaccines. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, 2021.
83. MOLLARASOULI, Fariba; ZARE-SHEHNEH, Nader; GHAEDI, Mehroang. A review on corona virus disease 2019 (COVID-19): current progress, clinical features and bioanalytical diagnostic methods. **Microchimica Acta**, v. 189, n. 3, p. 103, 2022.
84. NERY, Giulia Beletato et al. Impact of social distancing from the COVID-19 pandemic on the immuno-inflammatory response of older adults. **BMC geriatrics**, v. 24, n. 1, p. 99, 2024.
85. NEURATH, A. R. Immune response to viruses: antibody-mediated immunity. **Encyclopedia of virology**, p. 56, 2008.
86. NOTARTE, Kin Israel et al. Age, sex and previous comorbidities as risk factors not associated with SARS-CoV-2 infection for long COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 24, p. 7314, 2022.
87. NUÑEZ, Nicolás Gonzalo et al. High-dimensional analysis of 16 SARS-CoV-2 vaccine combinations reveals lymphocyte signatures correlating with immunogenicity. **Nature Immunology**, p. 1-14, 2023.
88. OERTELT-PRIGIONE, Sabine. **The impact of sex and gender in the COVID-19 pandemic**. European Union, 2020.
89. OPAS. Organização Pan Americana da Saúde. OMS. Organização Mundial da Saúde. Folha Informativa sobre COVID-19. 2021.
90. ORANGE, Jordan S. Human natural killer cell deficiencies. **Current opinion in allergy and clinical immunology**, v. 6, n. 6, p. 399-409, 2006.
91. PAROHAN, Mohammad et al. Risk factors for mortality in patients with Coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **The Aging Male**, v. 23, n. 5, p. 1416-1424, 2020.
92. PATEL, Rikin et al. A comprehensive review of SARS-CoV-2 vaccines: Pfizer, moderna & Johnson & Johnson. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 18, n. 1, p. 2002083, 2022.
93. PEREIRA, Michelly Cristiny et al. Desafios e conquistas da implementação do diagnóstico molecular da COVID-19 na Universidade Federal de Pernambuco. **Estudos**

- Universitários: revista de cultura, UFPE/Proexc**, Recife, v. 38, n. 2, p. 379-400, jul./dez., 2021.
94. PESSOA, Fernando. Mensagem. 1934.
 95. POLACK, Fernando P. et al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. **New England journal of medicine**, v. 383, n. 27, p. 2603-2615, 2020.
 96. PONCIANO-GÓMEZ, Alberto et al. High baseline expression of IL-6 and IL-10 decreased CCR7 B cells in individuals with previous SARS-CoV-2 infection during BNT162b2 vaccination. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 946770, 2022.
 97. RABI, Firas A. et al. SARS-CoV-2 and coronavirus disease 2019: what we know so far. **Pathogens**, v. 9, n. 3, p. 231, 2020.
 98. RADBRUCH, Andreas; CHANG, Hyun-Dong. A long-term perspective on immunity to COVID. 2021.
 99. REMUZZI, Andrea; REMUZZI, Giuseppe. COVID-19 and Italy: what next?. **The lancet**, v. 395, n. 10231, p. 1225-1228, 2020.
 100. ROTHAN, Hussin A.; BYRAREDDY, Siddappa N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **Journal of autoimmunity**, v. 109, p. 102433, 2020.
 101. SACKS, H.S., 2017. Review: in chronic hepatitis C virus infection, oral direct-acting antivirals have high sustained virologic response. **Ann. Intern. Med.** 167, JC3. [https://doi: 10.7326/ACPJC-2017-167-2-003](https://doi.org/10.7326/ACPJC-2017-167-2-003).
 102. SCHROEDER JR, Harry W.; CAVACINI, Lisa. Structure and function of immunoglobulins. **Journal of allergy and clinical immunology**, v. 125, n. 2, p. S41-S52, 2010.
 103. SETTE, Alessandro; CROTTY, Shane. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. **Cell**, v. 184, n. 4, p. 861-880, 2021.
 104. SETTE, Alessandro; CROTTY, Shane. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. **Cell**, v. 184, n. 4, p. 861-880, 2021.
 105. SHAUKAT, Natasha; ALI, Daniyal Mansoor; RAZZAK, Junaid. Physical and mental health impacts of COVID-19 on healthcare workers: a scoping review. **International journal of emergency medicine**, v. 13, p. 1-8, 2020.
 106. SILVA, Marcos Jessé Abrahão et al. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 infection: A systematic review. **Frontiers in immunology**, v. 13, p. 1001198, 2022.
 107. SINAIEI, Reza et al. Short-term Safety of Covaxin, Sinopharm, Sputnik V, and AstraZeneca COVID-19 Vaccines Among Iranian Healthcare Workers: A Cross-Sectional Study. **Archives of Clinical Infectious Diseases**, v. 19, n. 1, 2024.

108. SIU, K. L. et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus M protein inhibits type I interferon production by impeding the formation of TRAF3.TANK.TBK1/IKKepsilon complex. **J Biol Chem**, v. 284, n. 24, p-16202-16209, 2009.
109. SOUZA, William M. de; BUSS, Lewis F.; CANDIDO, Darlan da S. et al. Epidemiological and clinical characteristics of the COVID-19 epidemic in Brazil. **Nature Human Behaviour**, v. 4, n. 8, p. 856–865, 2020. doi: 10.1038/s41562-020-0928-4
110. SOUZA-SILVA, Guilherme Antonio DE et al. Memory elicitation, T-cell response and antibody production: an independent study of an inactivated entire virus vaccine (Coronavac). **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 94, 2022.
111. TARIQ, Hasnat et al. Virus-like particles: Revolutionary platforms for developing vaccines against emerging infectious diseases. **Frontiers in microbiology**, v. 12, p. 790121, 2022.
112. TARTOF, Sara Y. et al. Effectiveness of mRNA BNT162b2 COVID-19 vaccine up to 6 months in a large integrated health system in the USA: a retrospective cohort study. **The Lancet**, v. 398, n. 10309, p. 1407-1416, 2021.
113. TOMAR, Bhawna et al. Neutrophils and neutrophil extracellular traps drive necroinflammation in COVID-19. **Cells**, v. 9, n. 6, p. 1383, 2020.
114. TUKHVATULIN, Amir I. et al. An open, non-randomised, phase 1/2 trial on the safety, tolerability, and immunogenicity of single-dose vaccine “Sputnik Light” for prevention of coronavirus infection in healthy adults. **The Lancet Regional Health–Europe**, v. 11, 2021.
115. TURNER, Jackson S. et al. SARS-CoV-2 infection induces long-lived bone marrow plasma cells in humans. **Nature**, v. 595, n. 7867, p. 421-425, 2021.
116. V’KOVSKI, Philip; KRATZEL, Annika; STEINER, Silvio; STALDER, Hanspeter; THIEL, Volker. Coronavirus biology and replication: implications for sars-cov-2. **Nature Reviews Microbiology**, [S.L.], v. 19, n. 3, p. 155-170, 28 out. 2020.
117. VIVIER, Eric et al. Functions of natural killer cells. **Nature immunology**, v. 9, n. 5, p. 503-510, 2008.
118. WADMAN, Meredith. Vaccines that use human fetal cells draw fire. 2020.
119. WANG, Huihui et al. A sequência genética, origem e diagnóstico do SARS-CoV-2. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, p. 1629-1635, 2020.

120. WANG, Zhongfang et al. SARS-CoV-2-specific CD4+ T cells are associated with long-term persistence of neutralizing antibodies. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 1, p. 132, 2022.
121. WESTMEIER, Jaana et al. Impaired cytotoxic CD8+ T cell response in elderly COVID-19 patients. **MBio**, v. 11, n. 5, p. 10.1128/mbio.02243-20, 2020.
122. WHO COVID-19 Dashboard. Geneva: World Health Organization, 2020. Available online: <https://covid19.who.int/> (último acesso: 13/09/2023)
123. WILKINS, John T. et al. Seroprevalence and correlates of SARS-CoV-2 antibodies in health care workers in Chicago. **In: Open Forum Infectious Diseases. US: Oxford University Press**, 2021. p. ofaa582.
124. WITKOWSKI, Mario et al. Untimely TGF β responses in COVID-19 limit antiviral functions of NK cells. **Nature**, v. 600, n. 7888, p. 295-301, 2021.
125. WORLD HEALTH ORGANIZATION et al. Draft landscape of COVID-19 candidate vaccines. 2023.
126. WU, Qianhui et al. Evaluation of the safety profile of COVID-19 vaccines: a rapid review. **BMC medicine**, v. 19, p. 1-16, 2021.
127. WU, Yang; TIAN, Zhigang; WEI, Haiming. Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 930, 2017.
128. YAN, R; ZHANG, Y; LI, Y; XIA, L; ZHOU, Q. Structure of dimeric full-length human ECA-2in complex with B0AT1. **BioRxiv**, 2020.
129. YANG, Li et al. MERS-related betacoronavirus in *Vespertilio superans* bats, China. **Emerging Infectious Diseases**, v. 20, n. 7, p. 1260, 2014.
130. YE ZW, YUAN S, YUEN KS, et al. Origens zoonóticas dos coronavírus humanos. **Int J Biol Sci**. 2020;16(10):1686–1697.
131. ZALEWSKA, Marzena et al. An Immune Response to Heterologous ChAdOx1/BNT162b2 Vaccination against COVID-19: Evaluation of the anti-RBD Specific IgG Antibodies Titers and Interferon Gamma Release Assay (IGRA) Test Results. **Vaccines**, v. 10, n. 9, p. 1546, 2022.
132. ZANG, Jinkai et al. Yeast-produced RBD-based recombinant protein vaccines elicit broadly neutralizing antibodies and durable protective immunity against SARS-CoV-2 infection. **Cell Discovery**, v. 7, n. 1, p. 71, 2021.
133. ZASADA, Aleksandra Anna et al. COVID-19 Vaccines over Three Years after the Outbreak of the COVID-19 Epidemic. **Viruses**, v. 15, n. 9, p. 1786, 2023.

134. ZENG, Fanfan et al. A comparison study of SARS-CoV-2 IgG antibody between male and female COVID-19 patients: a possible reason underlying different outcome between sex. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 10, p. 2050-2054, 2020.
135. ZHANG, Xiaoqing; LI, Shuren; NIU, Shaoqian. ACE2 and COVID-19 and the resulting ARDS. **Postgraduate medical journal**, v. 96, n. 1137, p. 403-407, 2020.
136. ZHANG, Yanjun et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. **The Lancet infectious diseases**, v. 21, n. 2, p. 181-192, 2021.
137. ZHAO, Jing et al. COVID-19: coronavirus vaccine development updates. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 602256, 2020.
138. ZHOU P, Huang Z, XIAO Y, HUANG X, FAN X-G. Protecting Chinese healthcare workers while combating the 2019 novel coronavirus. **Infect Control Hosp Epidemiol.** 2020;5:1–4.
139. ZHOU, P; YANG, X; WANG, X; HU, B; ZHANG, L; XHANG, W; SI, H-R; ZHU, Y; LI, B; HUANG, C-L; CHEN, H-D; CHEN, J; LUO, Y; GUO, H; JIANG, R-D; LIU, M-Q; CHEN, Y; SHEN, X-R; WANG, X; ZHENG, X-S; ZHAO, K; CHEN, Q-J; DENG, F; LIU, L-L; YAN, B; ZHAN, F-X; WANG, Y-Y; XIAO, G-F; SHI, Z-L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n.7798, p. 270-273, 2020.
140. ZSICHLA, Levente; MÜLLER, Viktor. Risk factors of severe COVID-19: a review of host, viral and environmental factors. **Viruses**, v. 15, n. 1, p. 175, 2023.

Questionário | Pesquisa - COVID 19

O questionário de sinais e sintomas da Covid-19 visa contribuir com o projeto intitulado: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE PÓS-VACINAL ANTI-SARS-COV-2 EM ADULTOS JOVENS, com o objetivo de acompanhar a amostra.

Projeto aprovado no comitê de ética.

Número do Parecer: 4.919.975

* Indica uma pergunta obrigatória

1. E-mail *

2. Nome completo: *

3. E-mail: *

4. Idade *

5. Sexo: *

Marcar apenas uma oval.

Masculino

Feminino

6. Você já teve COVID-19? Se sim, quantas vezes?

Marcar apenas uma oval.

- 1
- 2
- 3
- Mais de 3 vezes
- Não
- Não lembro

7. Qual foi o fabricantes ou tipo de vacina da **1ª dose** (você pode consultar esta informação no Conecte SUS): *

Marcar apenas uma oval.

- Coronavac (Butantan)
- Comirnaty (Pfizer/Wyeth)
- Astrazeneca/Oxford
- Janssen Vaccine (Janssen-Cilag)
- Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca)

8. Qual foi o fabricantes ou tipo de vacina da **2ª dose** (você pode consultar esta informação no Conecte SUS):

Marcar apenas uma oval.

- Coronavac (Butantan)
- Comirnaty (Pfizer/Wyeth)
- Astrazeneca/Oxford
- Janssen Vaccine (Janssen-Cilag)
- Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca)

9. Qual foi o fabricantes ou tipo de vacina da **3ª dose** (você pode consultar esta informação no Conecte SUS):

Marcar apenas uma oval.

- Coronavac (Butantan)
- Comirnaty (Pfizer/Wyeth)
- Astrazeneca/Oxford
- Janssen Vaccine (Janssen-Cilag)
- Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca)

10. Qual foi o fabricantes ou tipo de vacina da **4ª dose** (você pode consultar esta informação no Conecte SUS):

Marcar apenas uma oval.

- Coronavac (Butantan)
- Comirnaty (Pfizer/Wyeth)
- Astrazeneca/Oxford
- Janssen Vaccine (Janssen-Cilag)
- Oxford/Covishield (Fiocruz e Astrazeneca)

11. Período que manifestou a doença (marque mais de uma opção caso necessário):

Marque todas que se aplicam.

- Antes da 1ª dose da vacina
- Após a 1ª dose da vacina
- Após a 2ª dose da vacina
- Após a 3ª dose da vacina
- Após a 4ª dose da vacina
- Não lembro

12. **INFECÇÃO ANTES DE TOMAR QUALQUER VACINA PARA A COVID-19:**
Durante a manifestação da infecção você teve sintomas? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Não contraí COVID-19 antes de me vacinar
- Perda de paladar ou olfato
- Febre
- Coriza
- Dores no corpo
- Cansaço
- Dor de garganta
- Dor de cabeça
- Diarreia
- Dificuldade para respirar ou falta de ar
- Perda da fala ou mobilidade
- Olhos vermelhos ou irritados
- Não tive sintomas
- Outro: _____

13. **INFECÇÃO DEPOIS DE TOMAR A 1ª DOSE DA VACINA PARA A COVID-19:**
Durante a manifestação da infecção você teve sintomas? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Não contraí COVID-19 DEPOIS DA 1ª DOSE
- Perda de paladar ou olfato
- Febre
- Coriza
- Dores no corpo
- Cansaço
- Dor de garganta
- Dor de cabeça
- Diarreia
- Dificuldade para respirar ou falta de ar
- Perda da fala ou mobilidade
- Olhos vermelhos ou irritados
- Não tive sintomas
- Outro: _____

14. **INFECÇÃO DEPOIS DE TOMAR A 2ª DOSE DA VACINA PARA A COVID-19:**
Durante a manifestação da infecção você teve sintomas? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Não contraí COVID-19 DEPOIS DA 2ª DOSE
- Perda de paladar ou olfato
- Febre
- Coriza
- Dores no corpo
- Cansaço
- Dor de garganta
- Dor de cabeça
- Diarreia
- Dificuldade para respirar ou falta de ar
- Perda da fala ou mobilidade
- Olhos vermelhos ou irritados
- Não tive sintomas
- Outro: _____

15. **INFECÇÃO DEPOIS DE TOMAR A 3ª DOSE DA VACINA PARA A COVID-19:**
Durante a manifestação da infecção você teve sintomas? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Não contraí COVID-19 DEPOIS DA 3ª DOSE
- Perda de paladar ou olfato
- Febre
- Coriza
- Dores no corpo
- Cansaço
- Dor de garganta
- Dor de cabeça
- Diarreia
- Dificuldade para respirar ou falta de ar
- Perda da fala ou mobilidade
- Olhos vermelhos ou irritados
- Não tive sintomas
- Outro: _____

16. **INFECÇÃO DEPOIS DE TOMAR A 4ª DOSE DA VACINA PARA A COVID-19:**
Durante a manifestação da infecção você teve sintomas? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Não contraí COVID-19 DEPOIS DA 4ª DOSE
- Perda de paladar ou olfato
- Febre
- Coriza
- Dores no corpo
- Cansaço
- Dor de garganta
- Dor de cabeça
- Diarreia
- Dificuldade para respirar ou falta de ar
- Perda da fala ou mobilidade
- Olhos vermelhos ou irritados
- Não tive sintomas
- Outro: _____

17. No geral, após a vacinação contra a COVID-19, você teve alguma reação? Se sim, quais?

Marque todas que se aplicam.

- Febre
- Dor local na região da vacina
- Dores no corpo
- Dor de cabeça
- Mal estar
- Náusea
- Não tive reações
- Não lembro

18. Tem comorbidade (doença de base)? Se sim, Quais?

Doenças de base ou comorbidades são causas que podem agravar uma doença e, dessa forma, podem piorar um quadro clínico de Covid-19 (ex: pressão alta, diabetes, etc...).

19. Durante a infecção tomou alguma medicação? Se sim, quais? Se não lembra, inserir a resposta "Não lembro".

Este conteúdo não foi criado nem aprovado pelo Google.

Google Formulários

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DA RESPOSTA IMUNE A VACINA INATIVADA ANTI-SARS-COV-2 EM ADULTOS JOVENS: UM ESTUDO PILOTO

Pesquisador: Michelly Cristiny Pereira

Área Temática: Projetos de pesquisa que envolvam organismos geneticamente modificados (OGM), células-tronco embrionárias e organismos que representem alto risco coletivo, incluindo organismos relacionados a eles, nos âmbitos de: experimentação, construção, cultivo, manipulação, transporte, transferência, importação, exportação, armazenamento, liberação no meio ambiente e descarte;

Versão: 4

CAAE: 50725521.5.0000.5208

Instituição Proponente: Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.708.068

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto de pesquisa docente, coordenado pela Prof^a. Dr^a. Michelly Cristiny Pereira. O estudo será do tipo prospectivo e exploratório.

Logo que o mundo foi acometido pelo Novo Coronavírus, o Instituto Butantan se associou à fabricante Chinesa de medicamentos Sinovac Biotech para promover, desenvolver e testar em parceria uma vacina que pudesse impedir o colapso do sistema de saúde brasileiro - a CoronaVac (BUTANTAN, 2021). Os estudos iniciaram ainda na China com cerca de 1166 voluntários nas fases I e II e logo iniciaram os estudos mais avançados comprovando sua segurança e produção de anticorpos, além de sua eficiência e eficácia.

O presente projeto tem como objetivo analisar e compreender melhor a resposta imune desenvolvida após a vacinação pela vacina inativada anti-SARS-CoV-2 (Sinovac CoronaVac) em adultos jovens, de uma população de Recife, PE.

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



UFPE - UNIVERSIDADE
FEDERAL DE PERNAMBUCO -
CAMPUS RECIFE -
UFPE/RECIFE

Continuação do Parecer: 5.708.068

Serão estudados 40 voluntários saudáveis, com idades entre 18 e 40 anos, com indicação de receberem a vacina inativada anti-SARS-CoV-2. Serão excluídos os indivíduos com sinais de doença aguda, em terapia imunossupressora ou imunoestimuladora, com imunodeficiência, doença autoimune e doenças crônicas, além de gestantes.

Os participantes serão recrutados no NUPIT-SG da UFPE, e elegíveis a receberem a vacina inativada antiSARS-CoV-2. Todos os participantes que aceitarem participar da pesquisa assinarão o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. As coletas de sangue periférico serão realizadas em três momentos, com retirada de 13 ml em cada uma: 1ª coleta (antes da primeira dose da vacina); 2ª coleta (15 dias após a 1ª dose e antes da 2ª dose); e 3ª coleta (entre 15 e 30 dias após a 2ª dose). Posteriormente, caso concordem em participar, será realizada a coleta de dados (Instrumento de coleta de dados) e sangue periférico.

A partir das amostras coletadas serão realizadas as seguintes avaliações: Imunofenotipagem por citometria de fluxo; Detecção de anticorpos para SARS-CoV-2; Separação de células mononucleares do sangue periférico; Cultura de células mononucleares do sangue periférico; e Determinação da concentração de citocinas, quimiocinas e moléculas anti- e pró-inflamatórias.

Obs.: Haverá retenção de amostras para armazenamento em banco, conforme consta na Plataforma Brasil, com a seguinte justificativa: "Amostras de soro, plasma e células mononucleares do sangue periférico serão armazenados em deep freezers e serão utilizados em pesquisas de projetos futuros na mesma linha de pesquisa. Os pacientes serão comunicados sobre essa pontualidade".

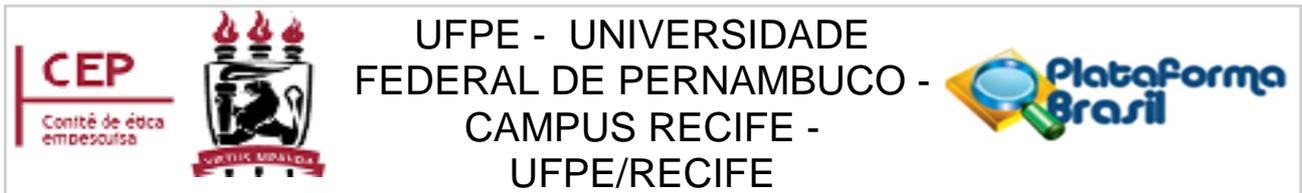
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral:

Avaliar a resposta imune desenvolvida após a vacinação pela vacina inativada anti-SARS-CoV-2, em adultos jovens, de uma população de Recife, PE, Brasil.

Objetivos específicos:

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.708.068

Determinar os níveis percentuais de linfócitos T e B e células NK em sangue periférico;

Realizar a detecção qualitativa de anticorpos humanos da classe IgG para SARS-CoV-2;

Determinar a concentração de citocinas, quimiocinas e moléculas anti-inflamatórias e pró-inflamatórias no plasma e sobrenadante de cultura celular;

Discutir sobre reações adversas apresentadas nos voluntários após vacinação;

Comparar os resultados laboratoriais em três momentos: antes da vacinação, após a primeira dose e após a segunda dose da vacina.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos foram descritos conforme a seguir. "Os riscos decorrentes desse estudo são associados aos procedimentos de coleta de sangue, uma vez que o nível de risco dependerá de fatores externos ao desenvolvimento da pesquisa. De maneira geral, o procedimento de coleta causa dor, inchaço, sangramento e/ou infecção no local onde a agulha penetra na sua pele.

Os prováveis riscos e efeitos adversos (efeitos danosos) de se realizar uma coleta de sangue incluem: sangramento e dor no local onde a agulha foi inserida, um inchaço debaixo da pele que contém sangue (hematoma).

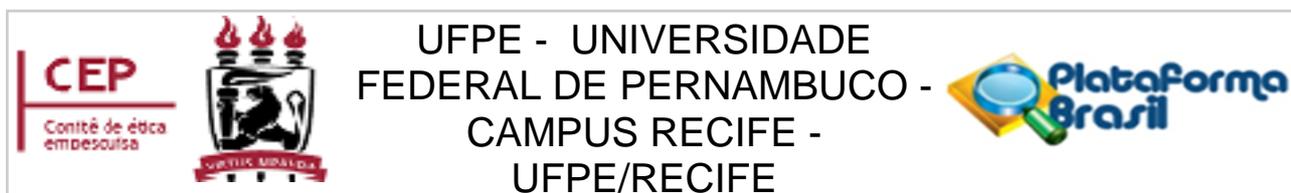
Como forma de conter os riscos (hematoma e inchaço) são indicados que sejam colocados no local de coleta e inserção da agulha bolsas de gelo".

Quanto aos benefícios estes foram descritos conforme a seguir. "Benefícios: Por se tratar de um estudo observacional o presente estudo não trará nenhum tipo de benefício direto para o voluntário, mas poderá haver benefícios para a sociedade, através do incremento do conhecimento científico a respeito da SARS-CoV-2".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo mostra-se relevante uma vez que busca descrever e compreender os efeitos promovidos

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.708.068

pela vacina inativada anti-SARS-CoV-2 (Sinovac CoronaVac) no nosso sistema imunológico. Assim, poderá trazer novos conhecimentos e subsidiar novas políticas públicas no combate a disseminação da COVID-19 no Brasil.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

- Currículuns: OK;
- Folha de Rosto: OK;
- Termo de Compromisso e Confidencialidade: OK;
- Carta de Anuência do Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica - Suely Galdino/NUPIT-SG: OK;
- TCLE: OK;
- Plataforma Brasil: OK;
- Projeto Detalhado: OK.

Recomendações:

- Nenhuma recomendação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

- Nenhuma pendência.

Considerações Finais a critério do CEP:

As exigências foram atendidas e o protocolo está APROVADO, sendo liberado para o início da coleta de dados. Conforme as instruções do Sistema CEP/CONEP, ao término desta pesquisa, o pesquisador tem o dever e a responsabilidade de garantir uma devolutiva acessível e compreensível acerca dos resultados encontrados por meio da coleta de dados a todos os voluntários que participaram deste estudo, uma vez que esses indivíduos têm o direito de tomar conhecimento sobre a aplicabilidade e o desfecho da pesquisa da qual participaram.

Informamos que a aprovação definitiva do projeto só será dada após o envio da NOTIFICAÇÃO COM O RELATÓRIO FINAL da pesquisa. O pesquisador deverá fazer o download do modelo de

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.708.068

Relatório Final disponível em www.ufpe.br/cep para enviá-lo via Notificação de Relatório Final, pela Plataforma Brasil. Após apreciação desse relatório, o CEP emitirá novo Parecer Consubstanciado definitivo pelo sistema Plataforma Brasil.

Informamos, ainda, que o (a) pesquisador (a) deve desenvolver a pesquisa conforme delineada neste protocolo aprovado. Eventuais modificações nesta pesquisa devem ser solicitadas através de EMENDA ao projeto, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1792972.pdf	17/10/2022 19:32:00		Aceito
Outros	Carta_respost.docx	17/10/2022 19:31:22	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Termo_Confidencialidade.docx	17/10/2022 19:28:05	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	VACINACAO_PROJETO_FINAL.docx	17/10/2022 19:27:22	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	17/10/2022 19:27:03	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	lattes_JOAO.pdf	24/09/2022 18:48:19	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Declaração de concordância	Anuencia_Moacyr.pdf	24/09/2022 18:38:59	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto.docx	11/08/2021 15:00:47	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Sayonara_Maria_Calado.pdf	11/08/2021 14:41:32	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Marina_Cadena_Matta.pdf	11/08/2021 14:41:09	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Amanda_Pinheiros_Barros.pdf	11/08/2021 14:40:56	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Curriculo_Michelle_Melgarejo_da_Rosa.pdf	11/08/2021 12:54:22	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Curriculo_Michelly_Cristiny_Pereira.pdf	11/08/2021 12:53:39	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
Outros	Curriculo_Eduardo_Davi_Lima_da_Silva.pdf	11/08/2021 12:52:43	Michelly Cristiny Pereira	Aceito

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 50.740-600

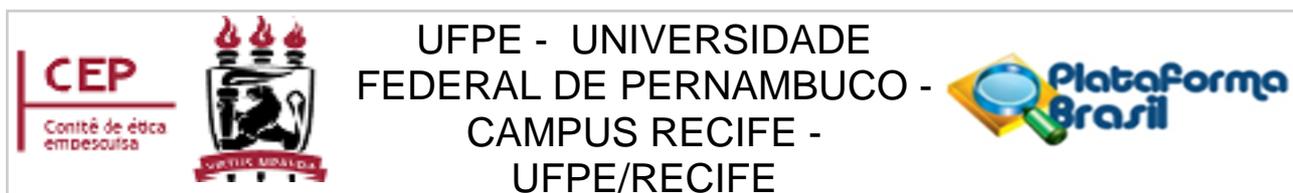
UF: PE

Município: RECIFE

Telefone: (81)2126-8588

Fax: (81)2126-3163

E-mail: cephumanos.ufpe@ufpe.br



Continuação do Parecer: 5.708.068

Outros	Curriculo_Maira_Galdino_da_Rocha_Pitt a.pdf	11/08/2021 12:51:52	Michelly Cristiny Pereira	Aceito
--------	--	------------------------	------------------------------	--------

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

RECIFE, 18 de Outubro de 2022

Assinado por:
LUCIANO TAVARES MONTENEGRO
(Coordenador(a))

Endereço: Av. das Engenhasria, s/n, 1º andar, sala 4 - Prédio do Centro de Ciências da Saúde
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 50.740-600
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)2126-8588 **Fax:** (81)2126-3163 **E-mail:** cephumanos.ufpe@ufpe.br