



Universidade do Estado do Rio de Janeiro
Centro Biomédico
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes

Angela Maria Guimarães dos Santos

**Dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e os diversos fenótipos da
COVID-19 em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica
Piquet Carneiro no período de abril de 2020 a janeiro de 2022**

Rio de Janeiro
2022

Angela Maria Guimarães dos Santos

**Dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e os diversos fenótipos da COVID-19
em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro no
período de abril de 2020 a janeiro de 2022**

Tese apresentada, como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Orientador: Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto

Rio de Janeiro

2022

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB-A

S237 Santos, Angela Maria Guimarães dos.
Dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e os diversos fenótipos da COVID-19 em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro no período de abril de 2020 a janeiro de 2022 / Angela Maria Guimarães dos Santos. – 2022.
106 f.

Orientador: Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto.

Tese (Doutorado) - Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental.

1. COVID-19 (Doença) – Epidemiologia – Teses. 2. COVID-19 (Doença) – Aspectos genéticos – Teses. 3. Biologia molecular – Teses. 4. Reações antígeno-anticorpo – Teses. 5. COVID-19, Pandemia de, 2020- . I. Pôrto, Luís Cristóvão de Moraes Sobrino. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes. III. Título.

CDU 616.98(815.3):614

Bibliotecária: Kalina Silva CRB7/4377

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, desde que citada a fonte.

Assinatura

Data

Angela Maria Guimarães dos Santos

**Dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e os diversos fenótipos da COVID-19
em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro no
período de abril de 2020 a janeiro de 2022**

Tese apresentada, como requisito para obtenção do título de Doutor, ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro.

Aprovada em 05 de agosto de 2022.

Orientador: Prof. Dr. Luís Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Wille Oigman
Faculdade de Ciências Médicas - UERJ

Prof. Dr. Heitor Evangelista da Silva
Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes – UERJ

Prof. Dr. Roberto de Andrade Medronho
Universidade Federal do Rio de Janeiro

Prof. Dr. Renato Santana de Aguiar
Universidade Federal de Minas Gerais

Rio de Janeiro

2022

DEDICATÓRIA

Dedico este estudo a todas as vítimas da COVID-19 e a todos os profissionais que atuaram nessa batalha contra o vírus.

AGRADECIMENTOS

À Universidade do Estado do Rio de Janeiro pela oportunidade de realização desse doutorado e pela concessão da bolsa de estudos.

Ao professor Dr. Luís Cristóvão Porto, obrigada pela confiança, pelo respeito e oportunidades ao longo da minha carreira, sou extremamente grata.

Ao meu pai Aldir dos Santos pelas palavras de motivação, ensinamentos e exemplos de vida.

A Ana Araújo, obrigada pelo companheirismo e paciência, desculpa pela minha ausência nesse período.

Aos meus colegas de trabalho do HLA-UERJ, especialmente a Dra. Danielle Secco pela significativa colaboração em todas as etapas do projeto, ao Dr. Romulo Vianna por compartilhar seus conhecimentos sempre de forma prestativa e paciente, a Giovanna Bomgiovanni pelo apoio, paciência, amizade e profissionalismo, obrigada por suprir minha ausência e a Dra. Jeane Nogueira pela presteza e profissionalismo.

A toda equipe que participou dos processos de diagnóstico a COVID-19, no laboratório HLA-UERJ, PPC e UERJ.

Ao Dr. Heitor Evangelista por toda confiança, aprendizado e amizade que construímos ao longo desse período. Minha eterna gratidão.

A Dra. Ana Teresa Vasconcelos por me acolher e permitir a realização dos sequenciamentos em seu laboratório, agradeço também a Dra. Alexandra Gerber pelo auxílio na realização das bibliotecas e a Dra. Alessandra Lamarca pelas análises filogenéticas, assim como toda equipe envolvida nos processos.

Aos membros da banca examinadora, que gentilmente aceitaram o convite para colaborar com este estudo.

Este trabalho é resultado de dedicação de vários profissionais e instituições que atuam em prol da ciência e ao combate a COVID-19. Meus sinceros agradecimentos.

Só sei que nada sei, e o fato de saber isso, me coloca em vantagem sobre aqueles
que acham que sabem alguma coisa.

Sócrates

RESUMO

SANTOS, Angela Maria Guimarães dos. *Dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e os diversos fenótipos da COVID-19 em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro no período de abril de 2020 a janeiro de 2022*. 2022. 106 f. Tese (Doutorado em Biologia Humana Experimental) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

O estudo descritivo e observacional foi realizado com o objetivo de descrever os aspectos clínicos e epidemiológicos dos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 assim como os aspectos filogenéticos do vírus. A coorte de estudo foi baseada nos casos detectados por SARS-CoV-2 dos pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro nos períodos de abril de 2020 a janeiro de 2022. A partir das fichas de cadastros, resultados de qRT-PCR, sequenciamento por NGS, titulação de anticorpos circulantes e anticorpos neutralizantes, identificamos 406 amostras que foram designadas ao estudo de geodistribuição das linhagens dentro da coorte. Dessas, 360 foram designadas ao estudo do perfil epidemiológico dos profissionais atendidos na PPC, 22 amostras correspondem a pacientes com reinfeção e 5 amostras de 2 pacientes com infecção prolongada, nesses foram realizadas as análises filogenéticas e perfil imunológico diante da vacinação contra a COVID-19. Das 406 amostras foi observada a disseminação de variantes de preocupação (VOC) por 17 municípios, as principais linhagens encontradas foram Gamma (P.1), Delta (AY.99.2) e Ômicron (BA.1). Devido as análises filogenéticas foi possível observar elevado acúmulo de mutações das linhagens Ômicron e a rápida disseminação de acordo com o tempo de evolução. Dentro desse estudo, observamos distribuições significativamente diferentes entre o número de substituições da linhagem Ômicron e anticorpos circulantes. Quanto às análises dos profissionais, constatamos que tanto os profissionais da saúde, quanto os profissionais de outras áreas tiveram alta exposição ao vírus, porém os profissionais da saúde foram os primeiros a se contaminar dentro dessa coorte. Quanto aos dados dos pacientes com infecção prolongada e reinfectados, concluímos que tanto os anticorpos circulantes, quanto os neutralizantes apresentam tendência de queda com o tempo, mesmo com imunização prévia devido a outra infecção ou vacinação, portanto, a imunização de reforço é essencial para o controle da circulação de novas cepas. Esses dados destacam a importância da vigilância genômica que possam auxiliar no rastreamento de novas variantes e minimizar os impactos causados pelo SARS-CoV-2.

Palavras-chave: COVID-19. Sequenciamento de nova geração. Variante de preocupação. Análise genômica. Epidemiologia. Anticorpo anti SARS-CoV-2.

ABSTRACT

SANTOS, Angela Maria Guimarães dos. *Dynamics of SARS-CoV-2 variants and the different phenotypes of COVID-19 in a cohort of patients seen at Policlínica Piquet Carneiro from April 2020 to January 2022*. 2022. 106 f. Tese (Doutorado em Biologia Humana Experimental) – Programa de Pós-Graduação em Biologia Humana e Experimental, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2022.

The descriptive and observational study was carried out with the objective of describing the clinical, epidemiological and phylogenetic aspects of patients infected with SARS-CoV-2. The study cohort was based on the cases detected by SARS-CoV-2 of patients seen at Policlínica Piquet Carneiro from April 2020 to January 2022. From the registration forms, qRT-PCR results, NGS sequencing, titration of circulating antibodies and neutralizing antibodies, we identified 406 samples that were assigned to the study of geodistribution of lineages within the cohort. Of these, 360 were assigned to the study of the epidemiological profile of professionals treated at the PPC, 22 samples correspond to patients with reinfection and 5 samples from 2 patients with prolonged infection, in which phylogenetic analyzes and immunological profile were performed in the face of vaccination against COVID-19. Of the 406 samples, the dissemination of variants of concern (VOC) was observed in 17 municipalities, the main lineages found were Gamma (P.1), Delta (AY.99.2) and Ômicron (BA.1). Due to the phylogenetic analysis, it was possible to observe a high accumulation of mutations of the Ômicron lineages and the rapid dissemination according to the time of evolution. Within this study, we observed significantly different distributions between the number of substitutions of the Ômicron lineage and circulating antibodies. As for the analysis of professionals, we found that both health professionals and professionals from other areas had high exposure to the virus, but health professionals were the first to be contaminated within this cohort. As for the data from patients with prolonged infection and reinfected, we concluded that both circulating and neutralizing antibodies show a tendency to decrease over time, even with previous immunization due to another infection or vaccination, therefore, booster immunization is essential for the control the circulation of new strains. These data highlight the importance of genomic surveillance that can assist in the screening of new variants and minimize the impacts caused by SARS-CoV-2.

Keywords: COVID-19. Next generation sequencing. Variant of concern. Genomic analysis. Epidemiology. Antibody anti SARS-CoV-2.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Histórico das pandemias geradas pelos vírus da Influenza A, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2.....	18
Figura 2 –	Número de casos de COVID-19 por semana epidemiológica do Estado do Rio de Janeiro nos anos 2020 e 2021.....	25
Figura 3 –	Número de internações e óbitos de COVID-19 por semana epidemiológica do Estado do Rio de Janeiro nos anos 2020 e 2021.....	26
Figura 4 –	Mecanismo de infecção e ciclo de replicação do SARS-CoV-2	30
Figura 5 –	Etapas do processo pré-analíticos e pós-execução da amplificação por qRT-PCR do SARS-CoV-2.....	37
Figura 6 –	Esquema de prevenção do contágio aplicado no Brasil e no Mundo.....	40
Figura 7 –	Fluxograma de seleção das amostras da coorte.....	53
Figura 8 –	Geodistribuição das linhagens de SARs-CoV-2.....	58
Figura 9 –	Mapa linha do tempo do início da distribuição das linhagens (n=406) dos casos da Piquet Carneiro comparado as linhagens encontradas no estado do Rio de Janeiro.....	61
Figura 10 –	Árvore filogenética das linhagens encontradas na amostragem dos pacientes da PPC e HUPE de 2020 a 2022 (n=406).....	62
Figura 11 –	Linha do tempo das linhagens de SARS-CoV-2 por categoria de ocupação conforme data de coleta.....	70
Figura 12 –	Linha do tempo da primeira dose de imunizante contra COVID-19 de acordo com a categoria de ocupação.....	73
Figura 13 –	Linha do tempo do percurso da infecção pelo SARS-CoV-2 em pacientes com infecção prolongada pela COVID-19 (n=2).....	76

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distância evolutiva dos acúmulos de mutações das linhagens SARS-CoV-2 no período de abril de 2020 a janeiro de 2022.....	63
Gráfico 2 – Média dos valores de Ct obtidos por qRT-PCR das diferentes linhagens do SARS-CoV-2 (n=406).....	64
Gráfico 3 – Manifestações clínicas descritas por pacientes infectados com as diferentes linhagens de SARS-CoV-2, no período de 2020 a 2022.....	65
Gráfico 4 – Correlação entre a titulação de anticorpos apresentados antes da infecção com acúmulo de mutações dos pacientes infectados com a linhagem Ômicron.....	66
Gráfico 5 – Distribuição das linhagens de SARS-Cov-2 por categoria de ocupação (n=360).....	69
Gráfico 6 – Distribuição dos sintomas apresentados durante a infecção por SARS-CoV-2 por categoria de ocupação (n=355).....	71
Gráfico 7 – Caracterização dos sintomas dos pacientes com infecção prolongada por SARS-CoV-2.....	75
Gráfico 8 – Características clínicas dos pacientes reinfectedos.....	79
Gráfico 9 – Distribuição dos sintomas e valor do Ct após a segunda dose de vacinação em indivíduos reinfectedos para SARS-CoV-2 (n=10).....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Frequência das Linhagens SARS-CoV-2 em circulação dentro da coorte no período de 2020 a 2022 (n=406).....	57
Tabela 2 –	Frequência das Linhagens SARS-CoV-2 em circulação no período de 2020 a 2022.....	59
Tabela 3 –	Descrição das características epidemiológicas dos diferentes profissionais pacientes infectados por SARS-CoV-2.....	67
Tabela 4 –	Distribuição dos pacientes pelas variáveis sexo e idade conforme classificação de ocupação.....	68
Tabela 5 –	Descrição das características clínicas dos pacientes infectados por SARS-CoV-2 segundo categoria de ocupação.....	72
Tabela 6 –	Dados demográficos e clínicos dos pacientes com infecção prolongada pelo SARS-CoV-2 (n=2).....	74
Tabela 7 –	Distribuição de reinfecção por linhagem.....	77

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Enzima conversora de angiotensina 2
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Adquirida
Ang	Angiotensina
APS	Atenção Primária à Saúde
AU/ml	Unidades Arbitrárias de Anticorpos por <i>ml</i>
cDNA	DNA complementar
CEP	Comitê de Ética e Pesquisa
COX-2	Ciclooxigenase-2
Ct	Ciclo <i>Threshold</i>
DBB	Departamento de Biofísica e Biometria
DECOL	Departamento de Ecologia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dp	Domínio da Peptidase
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EUA	Estados Unidos da América
FAPERJ	Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HLA-UERJ	Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IBRAG	Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes
IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
IMC	Índice de Massa Corporal
LARAMG	Laboratório de Radioecologia e Mudanças Globais
LNCC	Laboratório Nacional de Computação Científica.
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MS	Ministério da Saúde
nCoV	Novo Coronavírus
NGS	<i>Next Generation Sequencing</i>
nsp	Proteína não estrutural

NTD	Domínio N-terminal
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
ORF	<i>Open Reading Frame</i>
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
pp	Polipeptídio
PPC	Policlínica Piquet Carneiro
Proteína E	Proteína do envelope
Proteína M	Proteína da membrana
Proteína N	Proteína do nucleotídeo
Proteína S	<i>Spike</i>
qRT-PCR	Reação em Cadeia Polimerase Quantitativa
RBD	Domínio de Ligação ao Receptor
RdRp	RNA Polimerase Dependente de RNA
RE	Retículo Endoplasmático
RJ	Rio de Janeiro
RNA	Ácido Ribonucleico
S1	Subunidade 1
S2	Subunidade 2
SARS	Síndrome Respiratória Aguda Grave
SBEM	Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
ssRNA +	<i>Positive-Sense Single-Stranded RNA</i>
UERJ	Universidade do Estado do Rio de Janeiro
UFRJ	Universidade Federal do Rio de Janeiro
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
UV	Luz Ultravioleta
VOC	Variantes de Preocupação
VOI	Variantes de Interesse
VTM	Meio de Transporte Viral
WHO	<i>World Health Organization</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

nm	Nanomolar
kb	Kilobase
μm	Micrometro
h	hora
μl	Microlitro
m	Metro
ml	Mililitro
nm	Nanomolar

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	16
1	REVISÃO DA LITERATURA	17
1.1	Histórico dos vírus respiratórios e SARS-Cov-2	17
1.2	Epidemiologia	21
1.3	Estrutura genômica do SARS-Cov-2	28
1.4	Transmissão	33
1.5	Diagnóstico pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	36
1.6	Sistema Único de Saúde durante a pandemia da COVID-19	38
1.7	Atuação da Policlínica Piquet Carneiro e laboratórios de diagnósticos durante a pandemia	42
1.8	Variantes	45
2	OBJETIVOS	48
2.1	Geral	48
2.2	Específicos	48
3	MATERIAIS E MÉTODOS	49
3.1	Área e local do estudo	49
3.2	População do estudo	49
3.3	Critério de inclusão	49
3.4	Critério de Exclusão	49
3.5	Fonte de dados	50
3.6	Variáveis do estudo	50
3.7	Obtenção das amostras	51
3.8	Obtenção RNA viral	51
3.9	Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa quantitativa (qRT-PCR) do SARS-CoV-2	51
3.10	Parâmetro de configuração do qRT-PCR	52
3.11	Interpretação dos resultados qRT-PCR	52
3.12	Seleção e sequenciamento NGS e análise de dados	52
3.13	Análise filogenéticas	54
3.14	Seleção e detecção de anticorpos de SARS-CoV-2	55

3.15	Estatística.....	55
4	RESULTADOS.....	57
4.1	Geodistribuição e linhagens do SARS-CoV-2 em amostragem da Policlínica Piquet Carneiro – UERJ.....	57
4.2	Perfil epidemiológico e aspectos clínicos de diferentes profissionais da coorte de estudo.....	66
4.3	Estudo de caso: infecção prolongada.....	73
4.4	Reinfecção.....	77
5	DISCUSSÃO.....	81
	CONCLUSÃO.....	89
	REFERÊNCIAS.....	90
	APÊNDICE – Aprovação do CEP.....	101
	ANEXO A - Ficha de atendimento de agendados COVID-19.....	102
	ANEXO B – Página de rosto Coautoria publicação 1.....	103
	ANEXO C – Página de rosto Coautoria publicação 2.....	104
	ANEXO D – Página de rosto Coautoria publicação 3.....	105
	ANEXO E – Página de rosto Coautoria publicação 4.....	106

INTRODUÇÃO

Há pelo menos trezentos anos, a sociedade convive com vírus respiratórios. As infecções respiratórias são as doenças mais frequentes em humanos e grande parte destas infecções são provocadas por vírus (POTTER, 2001; SUDBRACK et al. 2007).

Em 11 de março de 2020 foi caracterizado, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), como estado de pandemia, o surto mundial da doença causada pelo novo coronavírus, que proporcionou aos serviços de saúde um cenário de ações em assistência e segurança à comunidade e profissionais envolvidos nos cuidados à população (GALLASCH et al., 2020).

A busca de dados estatísticos acerca de agravos como infecções respiratórias virais é uma questão de saúde pública. Conhecer dados específicos permite traçar ações de políticas públicas eficazes no combate à agravos ocasionados por um determinado vírus.

Esta pesquisa tem como objetivo fornecer definições mais precisas sobre os mecanismos epidemiológicos e genéticos que possam auxiliar as autoridades de saúde pública nas estratégias de combate à COVID-19, além de identificar a dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e as características clínicas dos casos no complexo da Policlínica Piquet Carneiro – Hospital Universitário Pedro Ernesto e UERJ no período de 2020 a 2022.

1 REVISÃO DA LITERATURA

1.1 Histórico dos vírus respiratórios e SARS-Cov-2

Os vírus respiratórios estão presentes na sociedade há pelo menos trezentos anos, que já enfrentou diversas epidemias e pandemias ao longo dos tempos (POTTER, 2001). A primeira registrada pandemia foi em 1918, originada pelo vírus Influenza A, conhecida como “gripe espanhola” que acarretou em 500 milhões de pessoas infectadas e 50 milhões mortes (ANDERSON et al., 2021). A segunda pandemia registrada ocorreu em 1957, originada pela cepa H2N2 IAV que acarretou 1,1 milhão de mortes em todo o mundo (ABDELRAHMAN; LI; WANG, 2020). Cerca de quase 9 anos depois (1968) o mundo enfrentou a terceira pandemia, causada pelo vírus H3N2 Cepa IAV originada em Hong Kong, resultando em aproximadamente 1 milhão de mortes (ABDELRAHMAN; LI; WANG, 2020). Entre 2009 e 2010, tivemos a quarta pandemia, causada pelo vírus influenza A (H1N1) que resultou em aproximadamente 575,4 mil mortes em todo o mundo (ABDELRAHMAN; LI; WANG, 2020; RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2020).

Nas últimas quatro décadas o mundo testemunhou a pandemia causada pelo vírus (HIV-1) que pode levar à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS em inglês). Desde o início na década de 80 até o final de 2020, 40 milhões de pessoas morreram em todo mundo por decorrência do vírus ou gravidade da doença (ANDERSON et al., 2021).

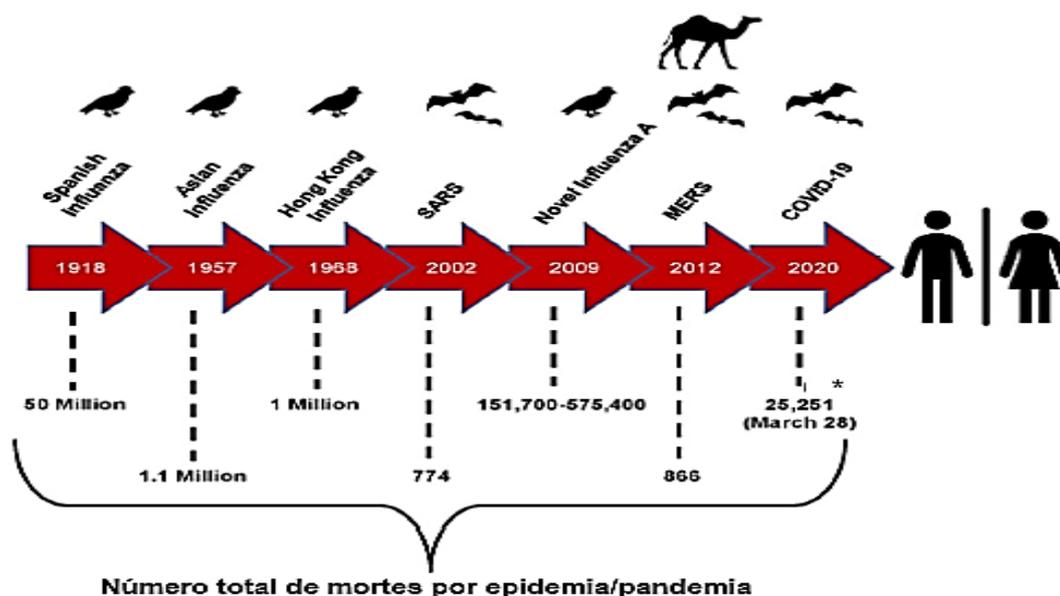
Além das pandemias, também enfrentamos epidemias, como por exemplo, Ebola de 2013-2016 na África Ocidental (RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2020) e na República Democrática do Congo em 2018-2020, que apesar de ter uma taxa de letalidade por infecção muito alta, pode ser controlada pelo sistema de rastreamento eficaz e quarentena (ANDERSON et al., 2021). O vírus da Zika transmitido pelo mosquito *Aedes aegypti* também teve destaque mundial, afetando principalmente o continente Americano e Africano, se disseminou por um total de 86 países em outubro de 2015 (RODRÍGUEZ-MORALES et al., 2020). No Brasil associou-se o vírus à doença microcefalia acometida em recém-nascidos. Embora a doença cause

morbidade grave, nenhuma vacina eficiente foi desenvolvida até o momento pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (CRODA et al., 2020; ANDERSON et al., 2021).

Outras epidemias também tiveram grande destaque, como a síndrome respiratória aguda grave causada pelo β -coronavírus (SARS-CoV), que iniciou no sul da China e se espalhou para 29 países ocasionando 774 mortes antes de ser controlada em julho de 2003 (SOFI; HAMID; BHAT, 2020). Em 2012, a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS), originária na Arábia Saudita também por um β -coronavírus, que se espalhou para 27 países e causou 2.519 infecções e 866 mortes (ACTER et al., 2020; MACHHI et al., 2020).

Em dezembro de 2019, foi observado um acúmulo de casos de pneumonia de causa desconhecida causada por β -coronavírus (identificado por fluido de lavagem bronco alveolar), inicialmente chamado de nCov (novo Coronavírus) e posteriormente por 2019-nCoV por ter sido descoberto no ano de 2019 (MACHHI et al., 2020; TAN et al., 2020), representado na Figura 1.

Figura 1 – Histórico das pandemias geradas pelos vírus da Influenza A, SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2



Nota: Linha do tempo das epidemias e pandemias dos vírus SARS-CoV, MERS-CoV e Influenza A e SARS-CoV-2, reservatórios naturais e número total de mortes causada por esses vírus.

Fonte: Adaptada de ABDELRAHMAN, 2020.

Em fevereiro de 2020 as autoridades internacionais (OMS) oficializaram o nome da doença pela Síndrome Respiratória Aguda Grave causada pelo SARS-CoV-2 (HU et al., 2020). A OMS anunciou o nome oficial desta doença para comunicações públicas como COVID-19 (HU et al., 2020), onde CO significa corona, VI para vírus, D para doença e 19 para o primeiro ano de surto dessa doença (ACTER et al., 2020).

Podemos classificar o coronavírus em quatro gêneros principais: α -coronavírus (alfa), β -coronavírus (beta), γ -coronavírus (gama), e δ -coronavírus (delta) (LIU et al., 2020; MACHHI et al., 2020). A diferença entre eles é que o α -coronavírus e β -coronavírus, infectam principalmente mamíferos (incluindo Humanos) (ACTER et al., 2020), enquanto γ -coronavírus, e δ -coronavírus infectam predominantemente aves (SOFI; HAMID; BHAT, 2020). Os gêneros α -coronavírus e β -coronavírus podem causar infecções no trato respiratório e gastrointestinal humanos, podendo se agravar e causar morte (LIU et al., 2020).

O gênero α - e β -coronavírus englobam também os coronavírus humanos HCoV-229E, HCoV-NL63, HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 (ACTER et al., 2020; SOFI; HAMID; BHAT, 2020). Os coronavírus humanos HCoV-OC43 e HCoV-229 causam o resfriado comum, o HCoVNL63 e HCoV-HKU1 causa infecções leves do trato respiratório, porém podendo também causar infecções graves no trato respiratório inferior (SOFI; HAMID; BHAT, 2020). Ambos afetam diversas faixas etárias principalmente indivíduos com comorbidades (MACHHI et al., 2020). A transmissão entre diferentes hospedeiros permite várias replicações e mutação antes da transmissão para humanos (ACTER et al., 2020; MACHHI et al., 2020).

O SARS-CoV-2 foi primeiro identificado na Província de Hubei, cidade de Wuhan na China (BHAT, 2020; LIU et al., 2020; MACHHI et al., 2020; SOFI; HAMID; BHAT, 2020). O mercado atacadista de frutos do mar de Huanan foi associado epidemiologicamente ao surto, devido a comercialização de animais selvagens vivos e frutos do mar vendidos ilegalmente, sem fiscalização sanitária (SOFI; HAMID; BHAT, 2020; TAN et al., 2020). Foram encontradas altas cargas virais provenientes do ambiente e de vendedores locais, entretanto ainda não ficou claro em quais animais iniciaram as primeiras infecções (LIU et al., 2020).

Os β -coronavírus (SARS-CoV, MERS-CoV e SARS-CoV-2) possuem semelhante transmissão zoonótica (de animais para humanos), tendo como possíveis hospedeiros naturais os morcegos e dromedários (SARS-CoV e MERS-CoV,

respectivamente). Quanto ao SARS-CoV-2, ainda não está totalmente clara sua origem zoonótica podendo ter se originado a partir da civeta, pangolim, cobra ou outro animal infectado (ABDELRAHMAN; LI; WANG, 2020). Embora as civetas tenha sido o principal hospedeiro intermediário no surto de SARS, o papel dos pangolins no surto de COVID-19 não está totalmente elucidado (WHO, 2021). A principal sugestão do ciclo de contaminação é a de que os CoVs sejam oriundos de morcegos e que por ventura infectaram os pangolins, e em função de algumas variações genéticas como mutações e fatores de recombinação evoluíram para transmissão em humanos, tendo os animais como principais hospedeiros intermediários (HALAJI et al., 2021).

Após estudos foi verificado que o vírus Bat-CoV-RaTG13, encontrado na espécie de morcego *Rhinolophus affinis* é 96% idêntico ao genoma do SARS-CoV-2, sugerindo sua origem (LIU et al., 2020; SOFI; HAMID; BHAT, 2020), além disso, foi verificado que grande número de morcegos da espécie *Rhinolophus mehelyi* (morcego ferradura) possui cepas virais com a mesma sequência CoVs relacionados a SARS (SOFI; HAMID; BHAT, 2020), porém o contato direto entre humano e morcego é raro, sugerindo a existência de hospedeiro intermediário para essa infecção (LIU et al., 2020). Essa teoria se confirmou em estudo dirigido por Liu (2020) onde através de análises filogenéticas e sequências de aminoácidos no gene S do SARS-CoV-2 foi possível confirmar similaridade com as sequências de pangolin-CoV-2020, e que os pangolins podem ser um hospedeiro natural para β -coronavírus por apresentaram o receptor ACE2, que tem o papel essencial no início da infecção viral e na determinação do tropismo do hospedeiro (LI et al., 2020).

A origem exata do SARS-CoV-2 permanece um assunto polêmico e de intensas especulações, que rapidamente se tornou emergência de saúde global apresentando desafios aos sistemas de saúde (SOFI; HAMID; BHAT, 2020). Foi verificado a necessidade de revisão das políticas de utilização de animais selvagens como fonte de alimento humano (BEIG PARIKHANI et al., 2021), e um aumento do controle, sanitização e impedimento da caça desses animais será fundamental para evitar novos surtos e epidemias locais (LIU et al., 2020).

1.2 Epidemiologia

A COVID-19 é considerada uma doença que traz potencial ameaça à saúde humana (ACTER et al., 2020). O novo vírus foi considerado mais contagioso que SARS, MERS e Influenza devido número de infecções ser maior do que o número total de casos suspeitos e, pela rápida propagação e gravidade da doença (ACTER et al., 2020). O surto de pneumonia relacionada à SARS-CoV-2 foi observado pela primeira vez em Wuhan, China (LAN et al., 2020). Este surto foi declarado como a sexta emergência de saúde pública pela OMS (RAUF et al., 2020), provocando 198 infecções confirmadas e três casos fatais do início do surto até 20 de janeiro de 2020 (BISCAYART et al., 2020). Segundo epidemiologistas, a epidemia causada pelo SARS-CoV-2 tornou-se pandemia devido a rápida propagação entre continentes e surgimento de novas cepas (ACTER et al., 2020).

Após o primeiro caso da doença relatado na região da China, foi confirmado outros casos na Tailândia e Japão em 13 e 16 de janeiro, respectivamente. Com a finalidade de reduzir a transmissão fora da China, Wuhan e outras cidades fizeram um *lockdown* em 23 de janeiro de 2020 (ACTER et al., 2020; BISCAYART et al., 2020; HU et al., 2020). Japão, Vietnã e Taiwan implementaram bloqueio rigoroso no início do surto (HUYNH, 2020), ignorando os danos econômicos nacionais. Essa estratégia de contenção da doença foi confirmada como eficaz, contudo comportamentos culturais de cada região influenciaram no fracasso ou sucesso no controle da doença (SHOAIB et al., 2021). Os países asiáticos aplicaram uma abordagem punitiva aos que não cumprissem o distanciamento social (SHOAIB et al., 2021), porém mesmo com o bloqueio realizado, o vírus se espalhou para outras cidades da Ásia, Europa, América do Norte, América do sul, África e Oceania (ACTER et al., 2020; BISCAYART et al., 2020; HU et al., 2020). O Governo sul-coreano interviu rapidamente assim que tomou conhecimento do primeiro caso no país, no final de janeiro de 2020 (FISHER; SANG-HUN, 2020). Imediatamente foi iniciada a produção de testes de coronavírus para atender a população, e isso permitiu isolar e tratar com rapidez as pessoas infectadas (FISHER; SANG-HUN, 2020). Além disso, para evitar a sobrecarga de hospitais e clínicas, as autoridades sul-Coreanas abriram 600 centros de teste para examinar o máximo de pessoas o mais rápido possível. Estações montadas de *Drive*

thru (serviço dentro do carro) permitiu que pacientes fossem testados com mais segurança dentro dos próprios veículos (FISHER; SANG-HUN, 2020). Restaurantes, escritórios e hotéis se adaptaram com câmeras de imagem térmicas e aplicativos de celular para verificar a temperatura de clientes antes de aceita-los (FISHER; SANG-HUN, 2020). O Governo também rastreou os passos dos pacientes que testaram positivo, conseguindo assim, isolar qualquer pessoa com quem o detectado teve contato (FISHER; SANG-HUN, 2020). O governo sul-Coreano conseguiu conter a propagação do vírus com mais eficiência que em outros países da Ásia (FISHER; SANG-HUN, 2020; KWON et al., 2020). Os casos na Ásia foram aumentando ligeiramente a partir de 25 de março (ACTER et al., 2020). O governo Russo aplicou penalidades contra a violação das instruções governamentais, e os governos da Índia e Filipinas foram mais rigorosos, aplicando voz de prisão às pessoas que não seguissem o distanciamento social (HUYNH, 2020; SHOAIB et al., 2021). Os países asiáticos atingidos depois da China foram, Turquia, Irã, Índia, Israel, Arábia Saudita, Japão e Coreia do Sul (ACTER et al., 2020).

Quando a situação se estabilizou na China, a Europa foi considerada o epicentro da COVID-19 (RAUF et al., 2020). O primeiro caso na Europa foi relatado em 24 de janeiro de 2020 em Bordeaux, França (RAUF et al., 2020), e logo foram relatados novos casos na Alemanha e Finlândia (ACTER et al., 2020). Na Itália o surto da doença iniciou em 21 de fevereiro de 2020, principalmente na cidade de Milão, segunda cidade mais populosa do país. A partir de 13 de março de 2020 os casos começaram a aumentar principalmente na Itália, França, Alemanha e Espanha, porém, todos os países da Europa foram afetados. Depois de 20 de abril de 2020, a Espanha teve seu maior pico de morte (21.282), os casos aumentaram rapidamente à medida que a pandemia se espalhou pela Europa (ACTER et al., 2020).

A COVID-19 atingiu maior magnitude na Europa e América, onde teve maior número de mortes entre os continentes (ACTER et al., 2020). No continente americano, todos os países da América do Norte relataram casos de infecção pelo SARS-CoV-2. Em 23 de Janeiro de 2020 o primeiro caso foi confirmado nos Estados Unidos (RAUF et al., 2020), e a partir de então, em abril de 2020, os EUA teve o maior número de casos confirmados em todo mundo. Todos os 50 estados relataram casos de COVID-19 para o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC). Os EUA não adotaram inicialmente políticas restritivas de segurança contra a COVID-19, como

o incentivo ao distanciamento social (SHOAIB et al., 2021). Segundo Huynh (2020), se tivesse praticado o distanciamento moderado em 4 meses poderia ter evitado a morte de 1,76 milhões cidadãos americanos em 2020 (GREENSTONE; NIGAM, 2020; HUYNH, 2020). Canada e México foram o segundo e terceiro países mais afetados pela COVID-19 na América do Norte (ACTER et al., 2020; RAUF et al., 2020).

No Brasil, em 3 de fevereiro de 2020, a COVID-19 foi declarada emergência de saúde pública levando cidades mais populosas como São Paulo e Rio de Janeiro a estimular as restrições sociais (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020; SICILIANO et al., 2020; CASSÃO et al., 2021), seguindo a lei nº 13.979/20 (Lei da Quarentena) aprovada pelo Ministério da Saúde (MS) (CRODA et al., 2020). O primeiro caso no Brasil notificado no dia 25 de fevereiro de 2020, em São Paulo (RODRIGUEZ-MORALES et al., 2020; CASSÃO et al., 2021), logo depois todo o país passou a realizar bloqueio parcial (CRODA et al., 2020; CROKIDAKIS, 2020; SHOAIB et al., 2021).

No Rio de Janeiro, em 16 de março de 2020, escolas e universidades foram fechadas, empresas adotaram e recomendaram aos seus empregados o *home office* (trabalho em casa) (DANTAS et al., 2020) e eventos públicos foram cancelados. Essas medidas foram adotadas para diminuir a circulação de pessoas na rua e conseqüentemente o contágio (CROKIDAKIS, 2020; SICILIANO et al., 2020).

Em 19 de março de 2020, um novo decreto determinou o bloqueio parcial das atividades não essenciais, como bares, restaurantes, praias, shopping centers e comércio, enquanto os serviços básicos e relacionados à saúde foram mantidos para atender a população (mercados, farmácias, atividades industriais e construção) (CROKIDAKIS, 2020; SICILIANO et al., 2020). O transporte público também foi afetado com a diminuição das frotas e a circulação entre cidades foi restrita aos usuários (DANTAS et al., 2020) exceto para os profissionais de saúde ou essenciais (polícias e bombeiros) (CRODA et al., 2020; SICILIANO et al., 2020). O Número de casos da doença aumentaram em todo país, e até 31 de março, 5.933 casos e 206 óbitos haviam sido registrados (CRODA et al., 2020). Depois desse período nenhum bloqueio (*lockdown*) mais restritivo foi imposto pelo governo, que solicitou que a população ficasse em casa, e os órgãos de defesa pública realizaram monitoramento nos bairros para evitar aglomerações e rápida disseminação do vírus (CROKIDAKIS, 2020). Vários países que adotaram política de *lockdown* precocemente, como

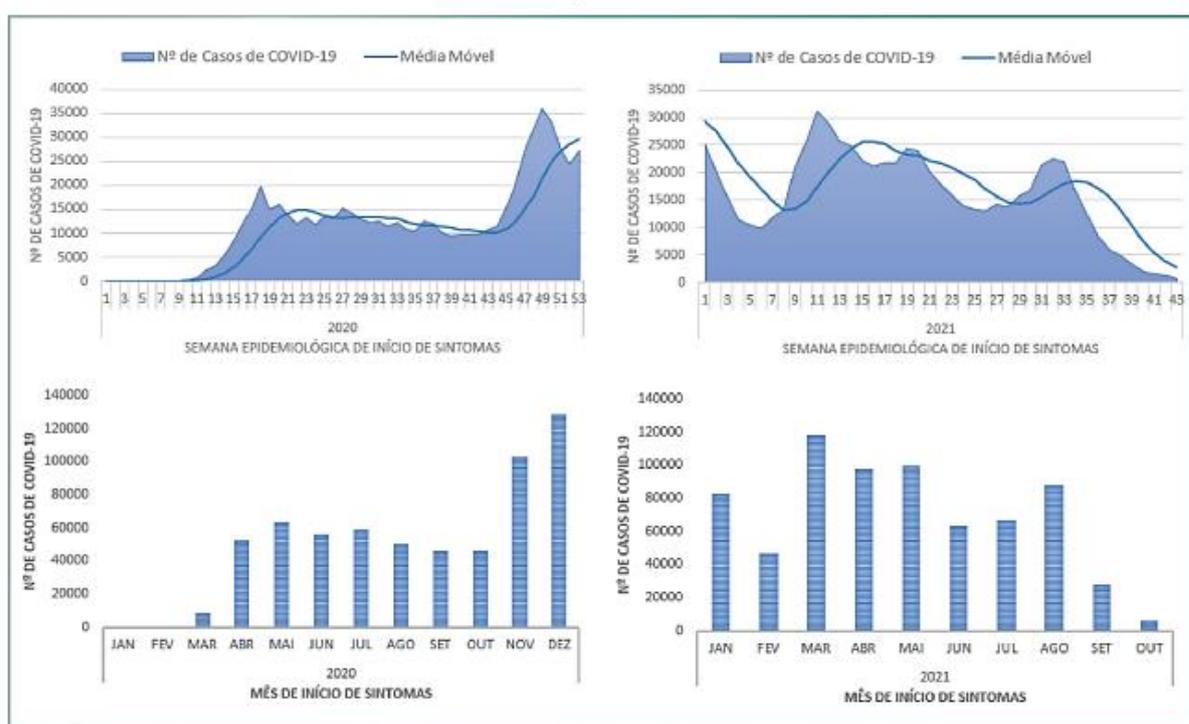
Tailândia mostrou-se eficiente na diminuição dos casos de infecção por COVID-19, por meio de implementação de intervenções não farmacêuticas estritamente aplicada (ANDERSON et al., 2021). Em estudo de Crokidakis (2020), que utilizou como modelo a cidade do Rio de Janeiro, verificou-se que para observar o declínio no número de casos, era necessário o distanciamento social de pelo menos 7 dias (CROKIDAKIS, 2020). Vários países adotaram o distanciamento e o isolamento social, manter a distância entre indivíduos infectados e saudáveis é uma das principais medidas de contenção para evitar a propagação do vírus (LEÃO et al., 2021). Outra fonte de infecção da COVID-19 são os pacientes sintomáticos e os assintomáticos. Os sintomáticos recebem o auxílio médico e isolamento mais eficiente porque é mais fácil de ser identificado, já os assintomáticos não apresentam sintomas clínicos óbvios que pode atrasar o diagnóstico e disseminar o vírus mais rapidamente (WANG et al., 2021).

Até 29 de abril de 2020, o Brasil ainda não aparecia no *ranking* dos países mais afetados pela pandemia, enquanto os EUA eram o país mais infectado em termos de casos confirmados (983.457), seguido por Espanha (210.773) e Itália (201.505). Na contagem de mortes relatadas, os EUA (50.492) permaneceu em primeiro lugar, a Itália (27.359) em segundo superando a Espanha (23.822) (KUMAR et al., 2020).

No Brasil, as tensões políticas entre a atual Presidência e o Ministério da Saúde levaram à divisão da população e a um aumento na desconfiança e descumprimento das medidas de enfrentamento, dificultando a coordenação dos esforços no combate à pandemia (DE LIMA; PEREIRA; MACHADO, 2020). A incompatibilidade das ações entre os poderes, levou estados e municípios a traçar novas estratégias e planos de contingência para a doença de forma autônoma (DE LIMA; PEREIRA; MACHADO, 2020; DE OLIVEIRA et al., 2020). No Estado do Rio de Janeiro por exemplo, o isolamento social foi flexibilizado em concordância entre especialistas, cientistas e o governo estadual, liberando grande parte do comércio para evitar colapso econômico (DANTAS et al., 2020). Em consequência disso o número de casos aumentou e o vírus disseminou mais rapidamente (DE OLIVEIRA et al., 2020). Segundo o Boletim Epidemiológico dos casos da COVID-19 no estado do Rio de Janeiro, em 2020 foram notificados 624.329 casos (incidência acumulada de 3.595,1 casos por 100 mil habitantes); e em 2021, até 30 de outubro, foram notificados 688.773 casos (incidência acumulada de 3.944,1 casos por 100 mil habitantes) (RJ, 2021). No ano

de 2020, o estado passou por duas ondas de alta transmissão, a primeira onda teve picos entre as semanas epidemiológicas 16, 17 e 18, incluindo os meses de abril e maio; a segunda onda teve picos entre as semanas 48, 49 e 50, na transição entre os meses de novembro e dezembro (RJ, 2021). Em 2021, a terceira onda apresentou picos entre as semanas 10, 11 e 12, referente ao final de março e entre as semanas 31, 32 e 33, referente a agosto, também se observou novo aumento de casos (RJ, 2021). Entretanto, houve redução e manutenção de queda que foi observada nos meses de setembro (menos 68% comparado com agosto) e outubro (menos 77% comparado ao mês de setembro) de 2021, observados na Figura 2 (RJ, 2021).

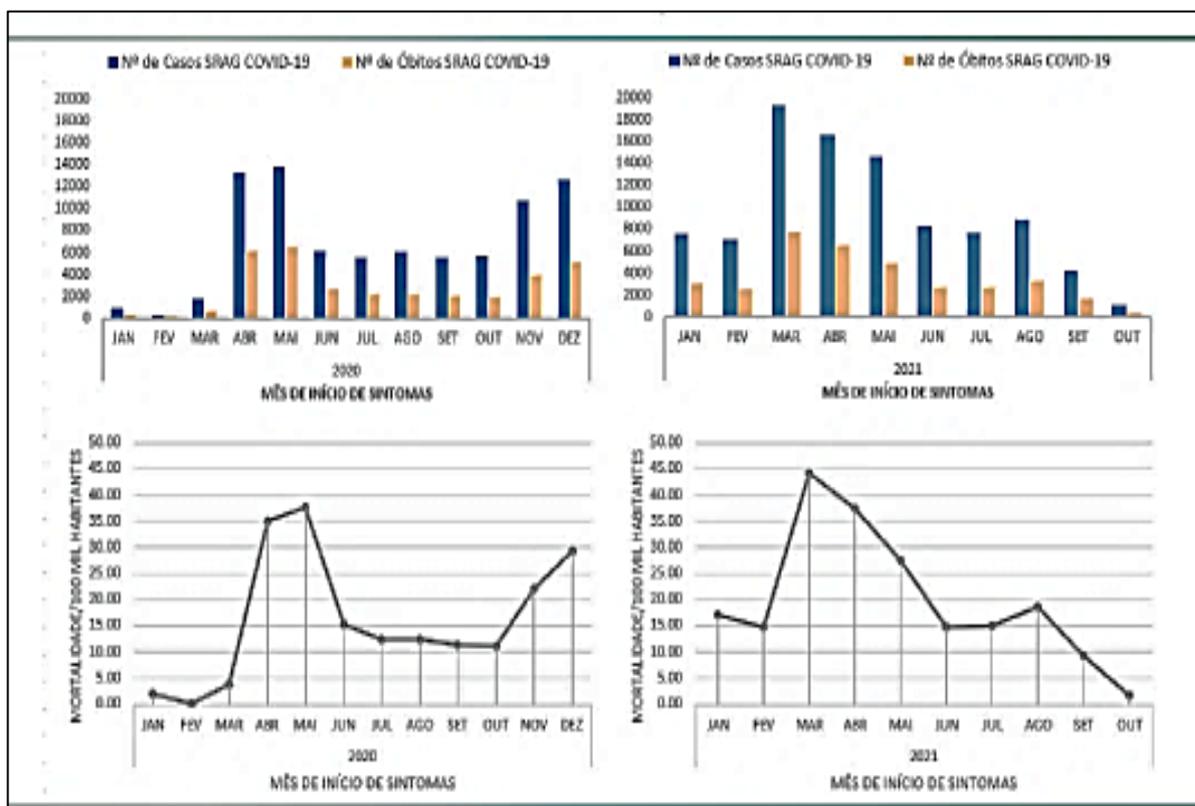
Figura 2 – Número de casos de COVID-19 por semana epidemiológica do Estado do Rio de Janeiro nos anos 2020 e 2021



Fonte: BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2022.

Quanto ao número de óbitos por COVID-19 registrados no estado do Rio de Janeiro, em 2020, foram 33.355 (192,1 óbitos por 100 mil habitantes), e em 2021, foram 34.984 (200,3 óbitos por 100 mil habitantes). Houve aumento de 5% nos óbitos em 2021. O mês de março de 2021 registrou o maior número de óbitos (7.708) e maior mortalidade (44,1 por 100 mil habitantes), observados na Figura 3 (RJ, 2021).

Figura 3 – Número de internações e óbitos de COVID-19 por semana epidemiológica do Estado do Rio de Janeiro nos anos 2020 e 2021



Fonte: BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO, 2022.

Em muitos países, um grande número de casos foi relatado no final de 2020 e início de 2021, devido ao surgimento de variantes com maior poder de transmissão, como a Delta, e as flexibilizações das medidas de prevenção e distanciamento imposta por cada país, além dos efeitos sazonais como o inverno do hemisfério Norte que influenciaram diretamente no comportamento e atividades locais (ANDERSON et al., 2021). Devido a rápida propagação do vírus e o surgimento de variantes de preocupação, a corrida pelo desenvolvimento de vacinas contra o SARS-CoV-2 levaram a uma aceleração nos ensaios clínicos e liberação de vacinas para a população (VOYSEY et al., 2021). No final de 2020, três vacinas que concluíram a fase 3 foram aprovadas e puderam ser distribuídas para uso, inicialmente na Europa e América do Norte (ANDERSON et al., 2021; VOYSEY et al., 2021).

No Brasil a Campanha Nacional de Vacinação contra a COVID-19 foi oficialmente iniciada em 18 de janeiro de 2021 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). A primeira vacina liberada para população brasileira, foi a Coronavac do fabricante

Sinovac (BRASIL, 2021). A vacina teve a proposta de 77,9% de proteção contra a COVID-19 com duas doses de aplicação com intervalo de 28 dias para a imunização completa (BRASIL, 2022). Já a vacina AstraZeneca desenvolvida pela Universidade de Oxford, segunda vacina liberada em larga escala, apresentou >99% de imunização e teve a proposta também de duas doses de imunização com intervalo de 3 meses (BRASIL, 2022). Para a vacina Comirnaty, desenvolvida pelos laboratórios Pfizer e BioNTech, o intervalo proposto entre as duas doses foi de 3 semanas e apresentou eficácia de 95% (BRASIL, 2021). A última vacina liberada para imunização no Brasil foi desenvolvida pelo laboratório Janssen Cilag com 93,1% de eficácia e esquema vacinal de dose única (BRASIL, 2022). O indivíduo é considerado totalmente vacinado 2 semanas após a segunda dose da vacina de duas doses, ou 2 semanas após a vacina de dose única (BSOUL; LOOMER, 2022).

Países do mundo todo, no decorrer do ano de 2020-2021 flexibilizaram as medidas de restrição conforme a vacinação em massa foi avançando (ANDERSON et al., 2021). O número de novos casos foi facilmente observado com o reflexo da flexibilização e afrouxamento das medidas restritivas, surgimento e disseminação de novas variantes, principalmente nos países com ausência de ação governamental (ANDERSON et al., 2021; MURPHY et al., 2022).

Em fevereiro de 2021 foi observado um aumento geral no número de casos e mortes pela COVID-19 na maioria dos estados brasileiros, surgindo uma nova variante (P.1) que segundo especialista tem alto poder de transmissão (MARQUITTI et al., 2021). Em estudo abordado pelas principais vacinas aplicadas a população brasileira, CoronaVac e AstraZeneca, foi demonstrado que essas vacinas oferecem proteção contra casos graves com as variantes B.1.351 (de origem africana) e P.1 (brasileira), entretanto foi observado aumento do número de casos em várias regiões do país sobrecarregando o sistema hospitalar e as unidades de terapia intensiva, tanto da rede pública de saúde, quanto das redes privadas, causando novamente um colapso nos estados (MARQUITTI et al., 2021). A nova variante altamente transmissível foi confirmada na Bélgica, Itália, Colômbia e rapidamente disseminada para outros países (MARQUITTI et al., 2021). A imposição tardia de bloqueios nacionais em países como EUA e Reino Unido, elevou o número de infecções e mortes, exigindo em última análise, intervenções mais longas e rigorosas (ANDERSON et al., 2021).

As variantes de preocupação surgiram e se tornaram dominantes em muitos países desde 2021, com a Delta, Alfa e Beta sendo as variantes mais virulentas. Em dezembro de 2021 surgiu a linhagem Ômicron, uma variante de preocupação, com capacidade de escape imune que pode permitir que ela se espalhe por meio de infecções, possivelmente permitindo-lhe coexistir com a variante Delta, que infecta mais frequentemente os não vacinados (BSOUL; LOOMER, 2022).

Segundo dados da WHO, em janeiro de 2022 foi observado aumento global de 71% no número de novos casos em relação a dezembro de 2021, e queda de 10% no número de mortes (WHO, 2022a). No continente americano registrou 3,2 milhões de novos casos principalmente no EUA, Argentina e Canadá. No entanto os países que apresentaram maior número de mortes foram EUA, Brasil e México (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022a).

Em 26 de junho de 2022, mais de 541 milhões de casos confirmados e 6,3 milhões de óbitos foram relatadas em todo mundo. Esses dados devem ser interpretados com cautela, pois vários países vêm realizando estratégias diferentes para o monitoramento da doença, gerando mudanças na política de testagem do SARS-CoV-2, que pode promover dados que não condizem com a situação real, ou seja, a baixa demanda de teste de SARS-CoV-2 pode resultar em menor número de casos detectados (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022b).

1.3 Estrutura genômica do SARS-Cov-2

Na taxonomia, a composição do ácido nucléico, nucleocapsídeo, bem como a presença ou ausência de envoltório lipídico, permite classificar os vírus em ordem e famílias (MOHAN et al., 2021). O comitê Internacional de Taxonomia de Vírus (ICTV em inglês), reconhece a seguinte hierarquia viral: ordem, família, subfamília, gênero e espécie. Sendo assim, o SARS-CoV-2 foi agrupado na ordem *Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae* e gênero *Betacoronavirus* (BEIG PARIKHANI et al., 2021), subgênero *Sarbecovirus* (ZANDI; SOLTANI, 2022).

O SARS-CoV-2 possui dois componentes semelhantes a qualquer vírus: região central onde se localiza o material genético e uma capa proteica denominada

capsídeo que protege o material (MOHAN et al., 2021). É um vírus de RNA de fita simples de sentido positivo (ssRNA +), ou seja, traduz diretamente uma proteína atuando como RNA mensageiro (BEIG PARIKHANI et al., 2021).

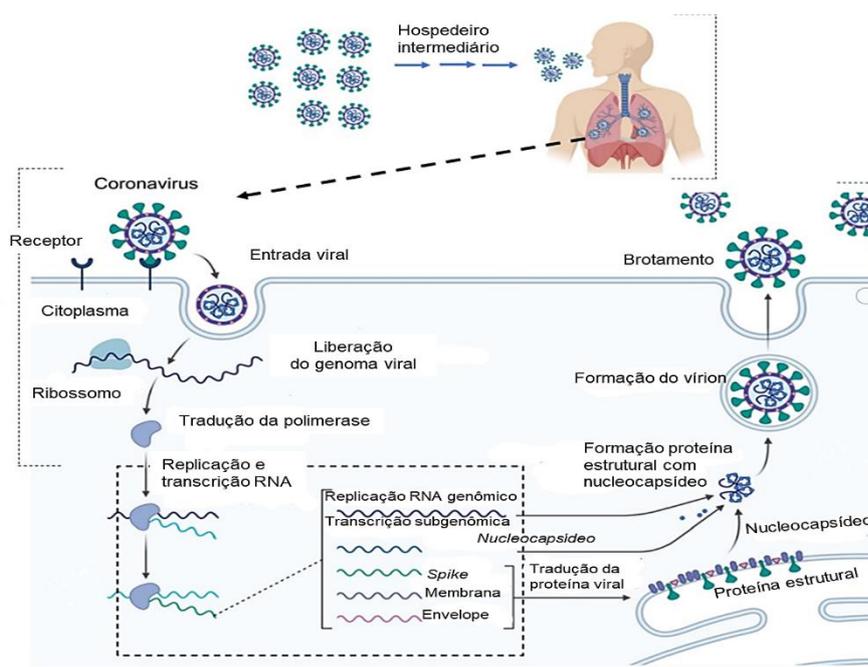
O SARS-CoV-2 possui formato esférico e poliédrico, que variam de 80 a 160nm de diâmetro (KUMAR et al., 2021). Em sua superfície há, projeções semelhantes a peplômeros (compostos de trímeros na proteína *Spike*) que podem ser evidenciados em imagens de microscopia eletrônica (BEIG PARIKHANI et al., 2021). No geral, o SARS-CoV-2 apresenta um genoma de ~30 kb de tamanho que codifica 9.860 aminoácidos (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020).

Cerca de dois terços do RNA do SARS-CoV-2 compreende a região ORF1a/b na porção 5' do genoma, que com 16 proteínas não estruturais (nsp1-16) é considerado a maior ORF (fase de leitura aberta, do inglês *open Reading frame*) (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020; GIOVANETTI et al., 2021). A maioria das nsps1-16 têm grande contribuição durante o processo de replicação viral. As nsp1-nsp16 unidas, formam dois grandes polipeptídios, polipeptídio 1 (pp1a) e polipeptídio 2 (pp1b) (CHEN; LIU; GUO, 2020). O terço restante do genoma próximo ao terminal 3' contém ORFs que codificam proteínas estruturais e acessórias (RAHIMI; MIRZAZADEH; TAVAKOLPOUR, 2021). As proteínas não-estruturais são codificadas dentro da célula infectada e desempenham papel importante no processo de replicação viral, regulação genica (ELLIS et al., 2021). Já as proteínas estruturais codificam as proteínas S (*Spike*), proteína E (envelope), proteína N (nucleocapsídeo) e proteína M (membrana), todas necessárias para a completa estruturação da partícula viral (ELLIS et al., 2021).

A glicoproteína *Spike* (proteína S) do coronavírus é uma glicoproteína trimérica pertencente às proteínas de fusão da classe I. Durante a infecção é clivada em duas subunidades S1 e S2 (TROYANO-HERNÁNDEZ; REINOSA; HOLGUÍN, 2021), utilizada como principal alvo de anticorpos de neutralização. A proteína S tem como função se ligar ao seu receptor e mediar a fusão da membrana e a entrada do vírus na célula hospedeira (CHEN; LIU; GUO, 2020; GIOVANETTI et al., 2021). O agrupamento na superfície do vírus de diversos trímeros confere uma forma de coroa (corona; coroa em latim) (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020; KUMAR et al., 2021). A entrada viral na célula é realizada através da ligação da subunidade S1 contendo o domínio de ligação ao receptor (RBD) diretamente ao domínio da peptidase (PD) da enzima

conversora de angiotensina 2 (ACE2) (YAN et al., 2020). Quando S1 se liga ao receptor ACE2 do hospedeiro (WALLS et al., 2020), outro sítio de clivagem em S2 é exposto e clivado por proteases do hospedeiro, processo crítico para infecção viral (LAN et al., 2020; YAN et al., 2020). A subunidade S2 é responsável pela fusão da membrana (WALLS et al., 2020; TROYANO-HERNÁEZ; REINOSA; HOLGUÍN, 2021). A entrada do coronavírus nas células suscetíveis é um processo complexo que requer a ação combinada de ligação ao receptor (Figura 4) e processamento proteolítico da proteína S para promover a fusão vírus-célula (WALLS et al., 2020). A ativação da ligação é realizada pela enzima furina, presente em vários órgão humanos incluindo pulmões, fígado e intestino delgado (LAN et al., 2020; KUMAR et al., 2021). A participação da enzima furina na expansão de células e tecidos auxilia na transmissibilidade e patogenicidade (WALLS et al., 2020).

Figura 4 – Mecanismo de infecção e ciclo de replicação do SARS-CoV-2



Fonte: Adaptada de ACTER, THAMINA, 2020.

A proteína do envelope viral (proteína E) é a menos abundante no vírion, porém tem papel primordial na montagem do vírus e liberação de partículas por meio da proteína M (de membrana) e, está intimamente ligada aos aspectos críticos do ciclo de vida viral (CHEN; LIU; GUO, 2020; TROYANO-HERNÁEZ; REINOSA; HOLGUÍN, 2021). Possui domínio hidrofóbico e uma cadeia C-terminal (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020; KUMAR et al., 2021). A cauda hidrofóbica se encontra em direção ao citoplasma formando complexos proteicos a partir da ligação de cadeias peptídicas originando poros através das membranas (RAHIMI; MIRZAZADEH; TAVAKOLPOUR, 2021). Essa estrutura proteica, as viroporinas (proteínas de natureza hidrofóbicas e de pequena arquitetura) são essenciais para a montagem viral, junto com sua liberação, denominado brotamento (MOHAN et al., 2021; RAHIMI; MIRZAZADEH; TAVAKOLPOUR, 2021). As proteínas do envelope são vírus-específicas, ou seja, carregam informação para completa estruturação da partícula viral, podendo codificar dois tipos de proteínas: as proteínas estruturais e as não estruturais, além de produzirem citotoxicidade (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020; RAHIMI; MIRZAZADEH; TAVAKOLPOUR, 2021). A interação das proteínas não estruturais 2 e 3 (nsp2 e nsp3), é essencial na indução da curvatura na membrana do retículo endoplasmático (RE), e a co-expressão das proteínas M e E facilitando o processo de produção de partículas virulentas esféricas (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020).

A proteína de Membrana (proteína M) está presente em todos coronavírus, e desempenha um papel importante na montagem, promove a curvatura da membrana e se liga ao nucleocapsídeo (CHEN; LIU; GUO, 2020). Suas propriedades de alteração de membrana dependem da interação com outros componentes virais, como as proteínas N, S e o RNA viral (TROYANO-HERNÁEZ; REINOSA; HOLGUÍN, 2021). A análise estrutural da proteína M mostra que ela existe em duas formas: longa e curta, que são originalmente homodímeros do ectodomínio do N-terminal e endodomínio do C-terminal (KUMAR et al., 2021). Os resíduos de tirosina na posição 211 do genoma viral, podem ser essenciais para a estabilidade da forma longa da proteína, que sugere a formação da espícula, esse processo consiste na dobra da membrana criando uma estrutura esférica que circunda a ribonucleoproteína (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020). Entender melhor o mecanismo da proteína M no ciclo de vida viral, pode ser considerada como uma opção terapêutica para inibir a

formação de vírions e prevenir reações inflamatórias em células hospedeiras (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020).

A proteína do Nucleocapsídeo viral (proteína N) também possui dois domínios principais: N-terminal e C-terminal (MOHAMMAD et al., 2021), os quais podem se ligar ao genoma do RNA do vírus por meio de diferentes mecanismos (CHEN; LIU; GUO, 2020). O nucleocapsídeo envolve o genoma viral formando uma camada protetora, composta por proteínas denominadas capsômeros. Essa estrutura possui configuração helicoidal (formato espiral) formando arranjos longos e flexíveis ao redor do genoma (MOHAN et al., 2021). O nucleocapsídeo interage com a proteína da membrana (M) durante a montagem viral (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020). É relatado que a proteína N pode se ligar à proteína nsp3 para ajudar a ligar o genoma ao complexo de replicação-transcrição e empacotar o genoma encapsidado em vírions (CHEN; LIU; GUO, 2020).

O nucleocapsídeo viral (proteína N + RNA) é sintetizado no citoplasma, enquanto as outras proteínas estruturais, como as proteínas S, M e E, são transcritas e traduzidas no retículo endoplasmático (RE) além de serem transportadas para o aparelho de complexo de Golgi (Troyano-Hernández, Reinoso, and Holguín 2021). Essa proteína é a mais abundante e expressa em amostras do hospedeiro durante os primeiros estágios da infecção (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020), além de possuir diversas funções que são fundamentais para o processo de replicação, transcrição e montagem do vírus, também desempenha um papel importante na patogênese viral, desencadeando resposta do hospedeiro à infecção viral (MOHAN et al., 2021), além disso, pode ativar a Ciclo-oxigenase-2 (COX-2) e gerar uma resposta inflamatória nos pulmões (SATARKER; NAMPOOTHIRI, 2020).

É fundamental entender o principal papel de cada proteína da estrutura do SARS-CoV-2, para entender os processos inflamatórios do hospedeiro, coibir a replicação viral e mutações (ELLIS et al., 2021). Além disso, a compreensão da genética por trás do surgimento do vírus será fundamental para gerar terapêuticas específicas e limitará o surgimento de novos CoVs futuramente (ELLIS et al., 2021).

1.4 Transmissão

Desde o início do primeiro surto do SARS-CoV-2 originado em Wuhan, o mercado de frutos do mar foi considerado como principal origem da doença (ROTHAN; BYRAREDDY, 2020). Acredita-se que os pacientes acometidos com a doença possam ter ingeridos animais infectados e a transmissão do vírus ter ocorrido de pessoa a pessoa por meio de tosse, espirro e disseminação de gotículas respiratórias e aerossóis (LOTFI; HAMBLIN; REZAEI, 2020). O termo aerossol pode ser classificado por pequenas partículas (líquidas ou sólidas) com tamanho de $<5-10\mu\text{m}$ que podem permanecer suspensas no ar por segundos a horas ($<5\ \mu\text{m}$), e ser carregadas por longos e curtos trajetos através das correntes de ar ($> 1\ \text{m}$) (MOHAN et al., 2021). Aerossóis menores tem uma tendência maior de serem inaladas, aumentando o risco de contágio (MOHAPATRA et al., 2021). A faixa intermediária de $10-20\mu\text{m}$ pode se estabelecer ou permanecer suspenso no ambiente (ANDERSON et al., 2020), e as gotículas maiores ($>20\mu\text{m}$) sedimentam sob força gravitacional (JARVIS, 2020; KWON et al., 2020). Quanto a velocidade de sedimentação, partículas de diâmetros $1-3\ \mu\text{m}$ podem permanecer suspensa quase indefinidamente, $10\ \mu\text{m}$ podem demorar 17 minutos, $20\ \mu\text{m}$ - 4 minutos e $100\ \mu\text{m}$ podem decantar em 10 segundos até a superfície do chão (ANDERSON et al., 2020).

Com o avanço de pesquisas de doenças respiratórias foi possível observar que a respiração normal e a fala também pulverizam gotículas no ambiente (EVANGELISTA et al., 2021a; MORENO et al., 2021). Gotículas do tamanho de aerossol ($1-3\mu\text{m}$) são produzidas no trato respiratório inferior e na região da laringe (EVANGELISTA et al., 2021a). Meio minuto de conversação pode liberar volume de secreção salivar compatível a uma tosse, e a intensidade pode ser maior durante o canto (ANDERSON et al., 2020). Durante a prática de exercícios físicos a emissão de gotículas também é considerável (JARVIS, 2020). O tamanho das gotículas expelidas pela fala variam com o volume e a articulação da face (JARVIS, 2020). Em estudo realizado em restaurante em Jeonju, Coreia, foi observado a transmissão aerodinâmica entre pessoas com distanciamento entre 4,8 e 6,5 m em ambiente fechado, sendo essa uma das primeiras evidências de transmissão aérea no início da pandemia da COVID-19 (KWON et al., 2020).

Uma série de condições ambientais afetam o tamanho e viabilidade desses aerossóis no ar, impactando no tempo de secagem no ambiente podendo variar de acordo com umidade relativa, temperatura, teor de sal, intensidade da luz ultravioleta (UV) e água (JARVIS, 2020; EVANGELISTA et al., 2021a; MOHAPATRA et al., 2021; MORENO et al., 2021). Também foi observado crescentes surtos de COVID-19 em locais em que há altos níveis de poluição como Itália, China, EUA e Irã, pois a absorção de partículas porosas de carbono (fuligem) daria proteção contra luz solar que poderia degradar as partículas do vírus (JARVIS, 2020). O componente UV da luz solar reduz a meia-vida em aerossóis do SARS-CoV-2, considerando a inativação mais eficaz (JARVIS, 2020). Acúmulo de aerossóis infecciosos em espaços fechados onde a ventilação é inadequada ou amplamente recirculada significa que o tempo de exposição é um fator chave (JARVIS, 2020; MORENO et al., 2021).

Estudos sobre a exposição de esgoto a céu aberto também tem sido alvo dos pesquisadores (AHMED et al., 2020; EVANGELISTA et al., 2021b; MOHAPATRA et al., 2021). A diarreia foi descrita como sintoma inespecífico da doença, podendo conter carga viral derivada de pessoas infectadas que ao ser exposto podem contaminar o ambiente com vírus (MOHAN et al., 2021). Em geral, partículas menores são geradas durante descargas de vasos sanitários e de pessoas doentes, enquanto partículas maiores são liberadas das estações de tratamento (MOHAPATRA et al., 2021). Em estudo brasileiro realizado por Evangelista et al. (2021), foi possível detectar SARS-CoV-2 em fração de aerossol entre 0,25 e 0,5µm (carga baixa de vírus - Ct: 40), que pode ser facilmente transportado através das correntes de ar (EVANGELISTA et al., 2021b). Entre aglomerações de casas em comunidades carentes (Favelas) existe a presença de esgoto a céu aberto que se espalha entre vielas e passagens de pedestres (EVANGELISTA et al., 2021b). A sanitização precária nesse ambiente resulta em grande produção de aerossol contendo nuvens de partículas de matéria orgânica contaminada (MOHAN et al., 2021). Essas micropartículas podem atingir o interior de residências onde as pessoas não usam máscara de proteção, ficando expostas por longo tempo ao vírus (EVANGELISTA et al., 2022). Assim, a transmissão fecal-oral do vírus também é uma possibilidade (MOHAPATRA et al., 2021).

A transmissão por fômite (objetos) também é considerada importante (MOHAPATRA et al., 2021), pois o vírus pode sobreviver muito tempo em superfícies

como o aço inoxidável (~5h) e o plástico (~6h) podendo se estender por até 9 dias em temperatura ambiente (ABRAHÃO et al., 2021; MOHAPATRA et al., 2021). A contaminação em massa que ocorreu com a tripulação do navio de cruzeiro Diamond Princess (origem japonesa) foi associada a fômites contaminados, sendo que a contaminação permaneceu nas superfícies por até 17 dias após o desembarque dos passageiros (MOHAPATRA et al., 2021).

A transmissão em transporte público também é preocupante, barras de aço, maçanetas e botões de embarque são regularmente tocados por passageiros (ABRAHÃO et al., 2021; MORENO et al., 2021). Em estudo realizado por Moreno e Col. (2021) foi testado o ar e superfícies dos ônibus que realizam o transporte público na cidade de Barcelona e foram detectados traços do vírus SARS-CoV-2 tanto em superfícies dentro do veículo e quanto no ar ambiente (MORENO et al., 2021). Maneiras óbvias de reduzir o risco de infecção em espaços fechados típicos envolvem o aumento da ventilação, desenvolvimento de protocolos mais eficientes de desinfecção em terminais e no interior dos transportes (ABRAHÃO et al., 2021), e uso de máscara para proteção pessoal (MORENO et al., 2021).

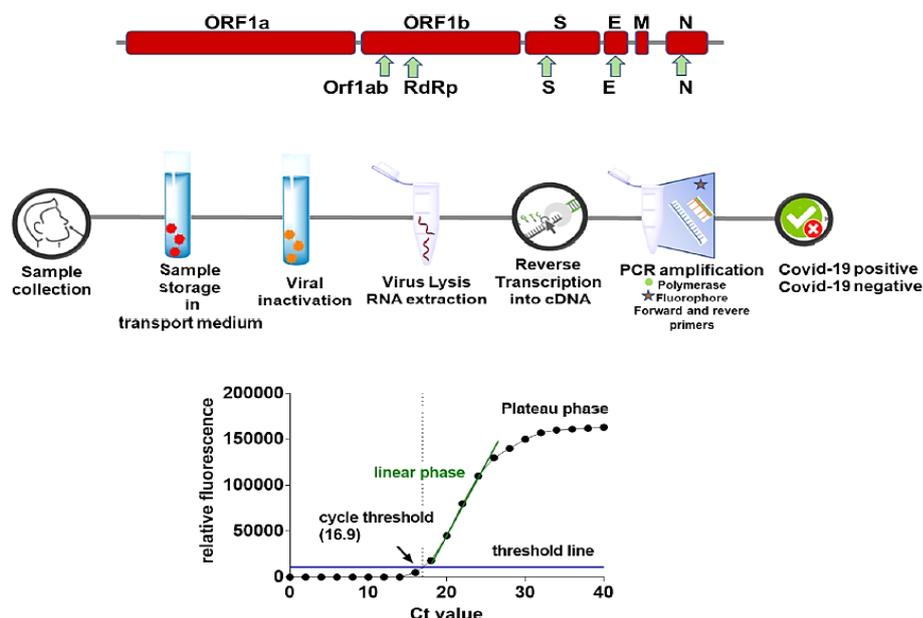
Há evidências epidemiológicas de que as máscaras individuais reduzem a transmissão/contágio. Qualquer proteção facial irá proteger de grandes partículas virais, mas partículas de aerossol, por exemplo, seguem o fluxo de ar e escapam pelas aberturas nas bordas (JARVIS, 2020). A fabricação de materiais filtrantes, eficazes para partículas menores dependem de vários fatores complexos como interações eletrostáticas, adesão de superfície e designer, que podem influenciar o custo de fabricação e eficiência de proteção (JARVIS, 2020). Portanto o distanciamento social e máscaras bem ajustadas ajudam a reduzir a transmissão de aerossol (CROKIDAKIS, 2020), bem como grande transmissão de gotículas (JARVIS, 2020). A transmissão do vírus SARS-CoV-2 por meio de expiração, tosse e espirro podem percorrer por distâncias longas em curto período de tempo (VAN DOREMALEN et al., 2020) . Portanto as normas de distanciamento estabelecidas pela OMS (2 metros) podem não ser suficientes para conter a transmissão viral (MOHAPATRA et al., 2021).

1.5 Diagnóstico pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A detecção rápida, triagem e diagnóstico dos casos positivos são essenciais para o controle da transmissão do vírus (RABAAN et al., 2021). A detecção do SARS-CoV-2 pode ser realizada por diferentes métodos laboratoriais (ADE et al., 2021). A detecção do vírus é realizada por método sensível da reação em cadeia de polimerase (PCR), que é considerado padrão em todo mundo (YUAN et al., 2020). A PCR convencional fornece análise qualitativa dos resultados, permitindo somente a distinção entre amostras com SARS-CoV-2 detectado ou não detectado, enquanto o qRT-PCR quantitativo pode mensurar a carga viral (RABAAN et al., 2021). Foi verificado que os valores quantitativos seriam vantajosos no diagnóstico para estimar a infecciosidade das pessoas infectadas (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL, 2020).

O teste qRT-PCR do vírus SARS-CoV-2 fornece a quantificação em tempo real pela transcrição reversa do RNA em cDNA (etapa RT) (SHEIKHZADEH et al., 2020) e, em seguida, realiza o qPCR (quantitativo), emitindo um sinal de fluorescência que aumenta proporcionalmente à quantidade de ácido nucléico amplificado, permitindo a quantificação do RNA na amostra (MINA et al., 2020). O valor de Ct é definido como o número de ciclos de amplificação necessários para que a fluorescência de um produto de PCR cruze um limiar (do inglês, *cycle threshold*) (YUAN et al., 2020; ENGELMANN et al., 2021), se a fluorescência atingir o limite especificado dentro de um certo número de ciclos de PCR (valor Ct), a amostra é considerada positiva (MINA et al., 2020; ENGELMANN et al., 2021). Este valor de corte do Ct é calculado por um algoritmo que interpreta automaticamente vários parâmetros do processo de amplificação (RABAAN et al., 2021). Para confirmar a detecção do SARS-CoV-2 um ou dois alvos do vírus devem ser detectados, garantindo a qualidade do teste. Os métodos qRT-PCR são geralmente projetados para amplificar os genes S, E, N, RdRp e ORF1a/b enquanto, sendo que os genes ORF1a/b e E foram os usados com mais frequência (SHEIKHZADEH et al., 2020). Os genes ORF1a/b e N são utilizados regularmente enquanto os genes N1, N2 e N3 e os genes E, N e RdRp são mais aplicados (SHEIKHZADEH et al., 2020) (Figura 5).

Figura 5 – Etapas do processo pré-analíticos e pós-execução da amplificação por qRT-PCR do SARS-CoV-2



Legenda: Genoma SARS-CoV-2 com principais alvos de prime, etapas do fluxo de trabalho do qRT-PCR até interpretação do resultado.

Fonte: ENGELMANN, 2021.

O valor de Ct foi sugerido como alternativa para interpretar o diagnóstico correlacionando com a carga viral, ou seja, com a dinâmica viral, replicação e transmissibilidade (SHEIKHZADEH et al., 2020; ROMERO-ALVAREZ et al., 2021), porém o Ct não reflete necessariamente a infecciosidade (ADE et al., 2021).

O valor de Ct depende de fatores pré-analíticos, analíticos, e variáveis pós-analíticas (RABAAN et al., 2021). Variáveis pré-analíticas incluem técnica de coleta, tipo de amostra, tempo da amostra coletada e cinética viral, condições de transporte e armazenamento antes do teste (ENGELMANN et al., 2021). Variáveis analíticas incluem, eficácia de extração de ácido nucleico, carga de RNA viral nas amostras coletadas, desenho de primer, natureza do RNA alvo, eficiência de PCR em tempo real e método de determinação do valor Ct, enquanto as variáveis pós-analíticas incluem, interpretação e relato dos resultados (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL., 2020). Todas essas variáveis podem influenciar no resultado do qRT-PCR e consequentemente no diagnóstico do paciente (RABAAN et al., 2021). Foi verificado que variantes na região da glicoproteína *spike* podem influenciar na detecção do vírus por RT-PCR (ENGELMANN et al., 2021), apresentando resultado falso-negativo. O uso de vários

primers podem ajudar a resolver esse problema, assim como a vigilância de mutação e genotipagem frequente do vírus, preservando a validade e utilidade do teste de PCR como padrão-ouro para detectar o SARS-CoV-2 (RABAAN et al., 2021).

O tempo de execução do PCR é relativamente demorado podendo variar de 6 à 8 horas entre o processamento e a liberação do laudo, dependendo da demanda do laboratório (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA LABORATORIAL., 2020).

1.6 Sistema Único de Saúde durante a pandemia da COVID-19

O Sistema Único de Saúde (SUS) foi criado em 1988, inspirado no Serviço Nacional de Saúde do Reino Unido (DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021), reconhecido por autoridades internacionais como o maior e mais eficiente sistema de saúde público do mundo (BOLINA; BOMFIM; LOPES-JÚNIOR, 2020). Foi criado para oferecer serviços a todos os brasileiros, distribuídos em 5.570 municípios, prestando assistência à saúde para aproximadamente 190 milhões de usuários (BOLINA; BOMFIM; LOPES-JÚNIOR, 2020).

Em resposta a situação pandêmica enfrentada pelo Brasil em março de 2020, foi exigida a construção e implementação de estratégias da Atenção Primária à Saúde (APS) com apoio primordial do Ministério da Saúde (MS), Secretaria de Atenção Primária à Saúde e Secretaria de Vigilância em Saúde para articular medidas de prevenção e combate à COVID-19 em conjunto com órgãos locais, estaduais e municipais (HARZHEIM et al., 2020).

Com essa força tarefa foi possível desenvolver ações para a população e comunidades evitando o encaminhamento desnecessário aos pronto-socorro dos casos não graves, filas e aglomerações nas portas dos hospitais (HARZHEIM et al., 2020). O uso de tecnologia de informação e comunicação foi fundamental para atender a população de forma remota, e a elaboração de sistemas de busca e cadastro eficiente permitiu o rastreamento dos indivíduos com suspeita de infecção ou em situação de agravamento pelo SARS-CoV-2 (DE SIMONE et al., 2021). A implementação dos programas de auxílio PrevineBrasil e TeleSUS apoiou na

produção e divulgação de protocolos clínicos e materiais de orientação, preventiva e assistência contra a COVID-19, esclarecendo os meios válidos apoiados pelos órgãos de saúde do Brasil (HARZHEIM et al., 2020; DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021). A plataforma TeleSUS é um modelo *Call Center*/teleconsulta por canais de atendimento telefônico que permite o cidadão ser avaliado, notificado e monitorado remotamente (DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021). As plataformas de telemedicina e telessaúde foram desenvolvidas para o atendimento por telefone e outros meios remotos, para consultas com multiprofissionais especialistas em saúde, médicos e psicólogos, evitando que casos agudos e crônicos (não tratáveis com farmacologia) busquem prontos-socorros ou outras portas de emergências (HARZHEIM et al., 2020). Também foi desenvolvido pela comunidade científica Fiocruz e Universidade do ABC o sistema Monitora COVID-19 e Observatório COVID-19 BR para monitorar dados epidemiológicos e sistema de vigilância a nível local e nacional, valorizando o papel da evidencia científica sólida (ROSA et al., 2021).

Durante o período pandêmico mundial, foi implementado uma série de intervenções para reduzir o impacto e transmissão do vírus, frear a evolução e disseminação da doença (AQUINO et al., 2020). Essas medidas incluem o isolamento de casos, incentivo à correta higienização das mãos, uso frequente de máscaras faciais em locais públicos, distanciamento social progressivo, restrição em eventos, viagens e transporte público (AQUINO et al., 2020). Essas ações foram implementadas de modo gradual e distinto em diferentes países e estados com maior ou menor intensidade, dependendo dos governos (AQUINO et al., 2020).

No decorrer da pandemia no Brasil, vivenciamos quatro tipos de prevenção de contágio: Quarentena, isolamento, distanciamento social e *bloqueio parcial* (WERNECK; CARVALHO, 2020). A quarentena se resume a restrição de circulação em áreas comuns (externas) do indivíduo supostamente infectado assintomático ou em período de incubação, pode ser aplicada individualmente ou em grupo, mantendo os indivíduos “infectados” em seus próprios domicílios ou instituições isoladas dos indivíduos saudáveis (AQUINO et al., 2020). O isolamento é a separação do indivíduo doente dos não infectados, para isso requer o diagnóstico precoce para evitar a transmissibilidade (AQUINO et al., 2020). O distanciamento social reduz a interação de uma comunidade dificultando a transmissão viral, ou seja, reduz o risco do indivíduo assintomático ainda não identificado ou tratado, contaminar outros

indivíduos supostamente saudáveis (HORTA et al., 2022). O sistema de *lockdown* (bloqueio total), é o caso extremo de distanciamento social, se resume a uma intervenção rigorosa aplicada a uma comunidade, cidade ou região através da proibição de circulação de pessoas fora de seus domicílios (AQUINO et al., 2020), essa medida foi aplicada no em diversos países, no Brasil foi realizado o bloqueio parcial em algumas cidades como por exemplo, Rio de Janeiro e São Paulo com a circulação de profissionais da saúde e de atividades essenciais . Por último foi observado o sistema de flexibilização, que consiste na liberação da população para as atividades normais (WERNECK et al., 2021) de acordo com diminuição das taxas de mortalidade em cada região e avanço das doses das vacinas que passou a ser aplicada no início de 2021 em todo mundo (Figura 6).

Figura 6 - Esquema de prevenção do contágio aplicado no Brasil e no Mundo



Fonte: A autora, 2022.

No Brasil a implementação das medidas de restrição gerou conflito político aberto entre o atual presidente Jair Bolsonaro e o ex Ministro da Saúde Luiz Henrique Mandetta, que vinha defendendo as medidas preconizadas pela OMS e apoiando as iniciativas locais e regionais mais rigorosas de controle da COVID-19 (AQUINO et al., 2020; BEZERRA et al., 2020; NEIVA et al., 2020). O presidente em todo período pandêmico no Brasil minimizou a importância da prevenção da COVID-19 e o distanciamento social (AQUINO et al., 2020; BEZERRA et al., 2020; BOLINA; BOMFIM; LOPES-JÚNIOR, 2020). O mesmo insistiu em uma abordagem negacionista contrária as provas científicas ao qual incentivou os cidadãos a negligenciarem as orientações do MS, alegando a necessidade de preservação da economia. (SHADMI et al., 2020). A flexibilização das medidas de distanciamento social foi recomendada pelos estados e municípios, e ganharam autonomia administrativa para adoção de medidas de emergência que digam respeito à saúde pública (AQUINO et al., 2020).

Uma pesquisa do Datafolha realizada em Abril de 2020, constatou que 76% dos entrevistados eram favoráveis à manutenção do distanciamento social mesmo

com prejuízos financeiros (BEZERRA et al., 2020; DATAFOLHA, 2020). O maior apoio foi percebido na região Nordeste (81%) e o menor na região Sul do país (70%) (AQUINO et al., 2020). Já em pesquisa realizada por Bezerra et al. (2020), foi evidenciado que a perda financeira durante a quarentena é um problema socioeconômico sério e um fator de risco para distúrbios psicológicos que podem perdurar por meses (BEZERRA et al., 2020). Além disso, devido ao risco de infecção, a maioria dos serviços de saúde foi restringido e procedimentos não essenciais foram adiados, gerando declínios acentuados nos serviços de saúde (HORTA et al., 2022). Devido à grande desigualdade social e econômica no país, foi aplicada medidas de proteção social e apoio a população de baixa renda e em situação de vulnerabilidade, o auxílio emergencial (AQUINO et al., 2020). Esse auxílio, no valor de R\$ 600,00 entrou em vigor em 2 de abril de 2020 pela Lei Nº 13.982, e foi concedido para proteção social durante o período de enfrentamento da COVID-19 (REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL, 2020).

Outro mecanismo de estratégia elaborado pelo governo para orientar o cidadão durante a pandemia SARS-CoV-2, foi o Conecte SUS (DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021). O aplicativo foi elaborado pela Rede Nacional de Dados em Saúde (RNDS) e seu objetivo principal é a divulgação de notícias oficiais sobre o vírus, vacinação e testes realizados pela rede pública de saúde (DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021). Outro aplicativo implementado para auxiliar a população foi o Coronavírus-SUS que disponibiliza a orientação de prevenção, ações em caso suspeito, sintomas e mapas das unidades de saúde, além de notícias oficiais do Ministério da Saúde. A revolução da saúde digital no Brasil ampliou estratégias facilitadoras entre diferentes estabelecimentos de atenção primária que devem permanecer ativas após a pandemia da SARS-CoV-2 para auxiliar a população (DONIDA; DA COSTA; SCHERER, 2021).

Mesmo diante de inúmeros esforços do corpo técnico-científico para amenizar os impactos gerados pela pandemia, a vulnerabilidade social, política e econômica prevaleceu durante o período pandêmico sobrecarregando o sistema de saúde nacional (AQUINO et al., 2020).

A telessaúde pode ser um instrumento de apoio a diferentes áreas médicas com estratégias claras de intervenção de acordo com as necessidades dos pacientes e médicos, além de agregar benefícios em áreas não emergenciais/rotineiras e em

serviços que não exigem interação paciente-médico. A implementação de sistemas de telessaúde para a construção de hospitais virtuais por telessaúde pode reduzir a carga do hospital convencional e fornecer assistência a população mais vulnerável (DE SIMONE et al., 2021).

1.7 Atuação da Policlínica Piquet Carneiro e laboratórios de diagnósticos durante a pandemia

Diante do primeiro caso notificado no Estado do Rio de Janeiro (RJ) em 05 de março de 2020, as universidades, hospitais e indústrias tiveram que se adaptar e se aprimorar de forma rápida para desenvolver e aplicar diagnóstico preciso para atender a demanda da população (AQUINO et al., 2020).

As instituições de saúde pública com o apoio do Ministério da Saúde e das Secretarias Estaduais e Municipais forneceram suporte financeiro para garantir a assistência de saúde a população. Diante desse cenário, a gestão dos laboratórios do Serviço de Patologia Clínica da Policlínica Piquet Carneiro (CAPSULA) da Policlínica Piquet Carneiro (PPC) e do Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação (HLA-UERJ), ambos vinculados a UERJ, iniciaram o atendimento aos profissionais de saúde da rede estadual do Rio de Janeiro em 23 de março de 2020 (ROCHA; ASSAD, 2021).

Os laboratórios contaram com a contratação emergencial de profissionais capacitados e estudantes voluntários da área da saúde para atuar juntos com os outros profissionais na rotina gerada pela pandemia (ROCHA; ASSAD, 2021). O CAPSULA ficou encarregado de atender o fluxo de pacientes, coleta de material (swab de nasofaringe), cadastro dos exames do sistema de laboratório e orientação dos pacientes. O CAPSULA contou com a contratação de coletores e administrativos ampliando 33% da equipe do atendimento/cadastro, o que possibilitou o cadastro em tempo real ou em menos de 24 horas de todos os pedidos médicos feitos no período de atuação (ROCHA; ASSAD, 2021).

Já o HLA-UERJ ficou encarregado na execução do diagnóstico molecular do vírus por técnica de biologia molecular, além da interpretação e liberação dos

resultados no prazo máximo de 72h (ROCHA; ASSAD, 2021). Nesse período, além da equipe que já atuava no laboratório, foram contratados mais colaboradores para realizar as atividades laboratoriais. Os colaboradores foram organizados em 4 equipes: uma equipe no período da manhã e uma no período da tarde (realizando escalas de 6h/diárias), e duas equipes no turno da noite revezando a escala de 12/36h. Cada equipe foi composta por 4 colaboradores, sendo 3 responsáveis pelas atividades laboratoriais e 1 responsável pela supervisão do turno vigente. Desta forma o laboratório funcionou ininterruptamente para receber, conferir, organizar e realizar os testes moleculares para diagnóstico da COVID-19 no menor tempo possível (ROCHA; ASSAD, 2021).

Os laboratórios tiveram o apoio de outras instituições para doação de insumos básicos para a atuação na pandemia, como equipamentos de proteção individual (EPI) como óculos de proteção, *faceshield*, máscara N.95, avental impermeável de manga longa, touca descartável, propé e luva de procedimento (nitrílica) para a atuação segura dos funcionários envolvidos na rotina. Outros laboratórios de pesquisa do Instituto de Biologia, Instituto de Nutrição e Faculdade de Odontologia da UERJ também disponibilizaram, equipamentos com termocicladores e centrífugas, além de plásticos e reagentes para atender a demanda de exames executados pelo HLA-UERJ (ROCHA; ASSAD, 2021). Para realização do diagnóstico molecular no HLA-UERJ, os reagentes (Kits de extração e amplificação) foram disponibilizados pelo Ministério da Saúde, plásticos (ponteiras, pipetas e tubos para criopreservação) e outros reagentes foram adquiridos com recursos do HLA-UERJ e os EPIs, utilizados pelos profissionais, fornecidos pelo almoxarifado da PPC. A Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro, forneceu testes rápidos para detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 do tipo IgA+IgM pelo método *casset* possibilitando teste rápido com resultado em até 30min (ROCHA; ASSAD, 2021).

As universidades e centros de pesquisa públicos trabalharam de forma incansável e voluntária para atenuar a pandemia da COVID-19 demonstrando forte resiliência institucional perante as negligências do governo (ROSA et al., 2021). A emergência de saúde pública gerou impacto coletivo na importação de produtos e insumos destinados a saúde, gerando escassez de produtos no mercado internacional (WERNECK, 2022). As universidades priorizaram as pesquisas em saúde transferindo o conhecimento gerado nas ciências básicas para a produção de novos produtos

como medicamentos, equipamentos, EPIs, testes diagnósticos e opções de tratamento inovador (ROSA et al., 2021).

A parceria das coordenações dos laboratórios com a direção geral da PPC e reitoria da UERJ contribuiu para o avanço de muitas pesquisas que puderam fornecer assistência à população. O Departamento de Biofísica e Biometria (DBB) e Ecologia (DECOL) do IBRAG, grupo de pesquisa do LARAMG (Laboratório de Radioecologia e Mudanças Globais), desenvolveu o aparelho nomeado CoronaTrack que permite a captura de partículas virais atmosféricas do SARS-CoV-2 em áreas de grande circulação para quantificar a carga viral no ambiente (UERJ, 2020). O LARAMG em parceria com o HLA-UERJ também participou de trabalho voluntário de coleta/testagem de SARS-CoV-2 na comunidade Santa Marta, prestando assistência à população mais vulnerável (EVANGELISTA et al., 2021b). Além disso, HLA-UERJ realizou uma parceria com o Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC) para a realização de sequenciamentos do vírus SARS-CoV-2 pelo projeto desenvolvido Corona-ômica-RSFJ (FAPERJ Proc:E-26/210.179/2020 e E-26/211.107/2021), que auxiliou no amplo sequenciamento de variantes e cepas circulantes no Brasil. O projeto constitui numa rede de laboratórios descentralizados que juntos atuam na captação e sequenciamento genômico de amostras de SARS-CoV-2. Até julho de 2022, foram gerados mais de 7 mil genomas de SARS-CoV-2 utilizando a tecnologia de sequenciamento por NGS (sequenciamento de nova geração, do inglês “*next generation sequencing*”). O laboratório de Virologia Molecular da UFRJ também atuou de forma cooperativa com a UERJ no desenvolvimento de projetos afim de elucidar a atuação dos anticorpos neutralizantes com a introdução dos imunizantes contra COVID-19 e as novas variantes.

Desde o início da pandemia foi percebida a necessidade do esforço conjunto de pesquisadores, instituições e governos para o entendimento do SARS-CoV-2. Com auxílio humanitário, foi possível contribuir com embasamento científico estratégias de vigilância epidemiológica e genômica que pudessem auxiliar em medidas de proteção e combate a COVID-19.

1.8 Variantes

Os vírus podem sofrer mutação ou alterar seu material genético toda vez que sofrem replicação (ELLIS et al., 2021; HALAJI et al., 2021). Ao contrário dos vírus de DNA, a frequência de mutações em vírus RNA é maior, como no caso dos coronavírus (AWADASSEID et al., 2021; JOGALEKAR; VEERABATHINI; GANGADARAN, 2021).

A pandemia no Brasil foi iniciada com a introdução de duas linhagens principais, B.1.1.28 e B.1.1.38 que caracterizou a primeira onda epidêmica de SARS-CoV-2 (LAMARCA et al., 2021; MOREIRA et al., 2021). As linhagens provavelmente surgiram em fevereiro de 2020 e o acúmulo de mutações foi relativamente constante ao longo do tempo evolutivo (NAVECA et al., 2021).

A OMS definiu novo padrão para nomear as variantes do coronavírus e as letras do alfabeto grego passaram a ser utilizadas (OPAS, 2021). Segundo a OMS, a mudança foi importante para evitar a rotulação e discriminação dos países onde as variantes foram identificadas inicialmente, porém as novas denominações não substituem os nomes científicos que podem ser utilizados em trabalhos científicos (KONINGS et al., 2021). As definições de variantes de interesse (VOI) e variantes de preocupação (VOC) passaram a ser utilizadas no final de 2020, depois do surgimento de variantes que apresentavam maior risco para a saúde pública global (DEB et al., 2021; KONINGS et al., 2021).

Algumas características devem ser observadas em uma variante para ela ser classificada como VOC, como ser associada ao aumento da transmissibilidade ou alteração prejudicial na epidemiologia da COVID-19. Aumento da virulência ou mudança na apresentação clínica da doença; ou Diminuição da eficácia das medidas sociais e de saúde pública ou diagnósticos, vacinas e terapias disponíveis (DEB et al., 2021; OPAS, 2021; HIROSE et al., 2022). Já a variante VOI deve ter sido identificada como causadora de transmissão comunitária, de múltiplos casos ou de *clusters* (agrupamentos de casos) de SARS-CoV-2 ou ter sido detectada em vários países (OPAS, 2021).

Em meados de dezembro de 2020, o número de casos começou a crescer estabelecendo o efeito da segunda e terceira onda epidêmica na cidade do Rio de Janeiro, onde foram identificadas seis linhagens circulantes Gamma (P.1), Zeta (P.2),

B.1.1.28, Alfa (B.1.1.7), B.1.1.33, e N.9 (MOREIRA et al., 2021). Em estudo realizado por Naveca et al. (2021) onde compararam a linhagem B.1.1.28 e com a linhagem Gamma (P.1), foi observado elevado acúmulo de mutações na P.1 (NAVECA et al., 2021). Segundo o estudo, a linhagem P.1 mostrou ter carga viral 10x mais elevada que as não-P.1 (NAVECA et al., 2021). Lamarca et al. (2021) observaram que a linhagem Zeta (P.2) se diferenciou em vários subclados entre abril e setembro de 2020. Evidências experimentais apoiam que VOC P.1 exibiu maior afinidade para o receptor humano ACE2 e maior resistência à neutralização de anticorpos, que pode fornecer vantagem seletiva para a transmissão sobre outras linhagens (NAVECA et al., 2021).

As variantes VOC (B.1.1.7, B.1.351, P.1 e B.1.617.2) estão associadas a maior transmissibilidade, virulência e capacidade de escape da imunidade natural mediada pela infecção, vacina ou testes de diagnósticos (MOREIRA et al., 2021; SINGH et al., 2021). A mutação E484K do domínio RBD pertencente a linhagem B.1.1.7 foi associada à resistência de anticorpos mediada por vacina (JOGALEKAR; VEERABATHINI; GANGADARAN, 2021; SINGH et al., 2021). Indivíduos infectados com as linhagens VOC B.1.1.7; P.1; B.1.351 foram mais propensos a hospitalização e UTI em comparação com casos não-VOC (DEB et al., 2021). A variante Delta (B.1.617.2) surgiu no final de 2020 e apresentou resistência à anticorpos neutralizantes combinada com maior transmissibilidade (EVANS et al., 2022). O surgimento da Ômicron em dezembro de 2021, gerou séria preocupação mundial, apresentando grande número de mutações que poderiam impactar na resistência a vacinas (EVANS et al., 2022). O número de casos aumentou mesmo em indivíduos vacinados, porém, as infecções causadas pela variante Ômicron foram clinicamente menos graves do que as causadas pela variante Delta (EVANS et al., 2022).

O avanço do sequenciamento do SARS-CoV-2 possibilitou a identificação e o monitoramento de mutações que surgiram desde o início da pandemia (RABAAN et al., 2021).

O conhecimento das variantes em circulação é importante para fabricação de medicamento eficaz para o combate do SARS-CoV-2. Estudos mostraram que pode haver variação na eficácia do medicamento de indivíduo para indivíduo devido a diversas condições do hospedeiro, como o estado imunológico, idade e sexo, mas

como também diversas variantes podem interferir no sítio de interação do medicamento, impedindo sua eficácia nos indivíduos (JAKHMOLA et al., 2021).

Dados epidemiológicos sustentam evidências que as VOCs aumentam rapidamente em frequência, tornando-se predominantes e a disseminação ocorre de forma acelerada para outras regiões (MOREIRA et al., 2021). Portanto, monitorar o surgimento de novas variantes do SARS-CoV-2 é especialmente importante, pois a imunidade mediada por vacina fornece uma pressão seletiva mais forte para a evolução do SARS-CoV-2 (SINGH et al., 2021).

Monitorar as futuras variantes emergentes do SARSCoV-2 é fundamental para determinar medidas de controle e transmissão zoonótica já que é possível a introdução de novos reservatórios em animais, pois podem ter implicações na trajetória evolutiva do SARS-CoV-2 e a pandemia de COVID-19 (SINGH et al., 2021).

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Fornecer definições mais precisas sobre os mecanismos epidemiológicos e genéticos que possam auxiliar as autoridades de saúde pública nas estratégias de combate à COVID-19.

Nosso objetivo foi identificar a dinâmica das variantes do SARS-CoV-2 e as características clínicas dos casos no complexo da Policlínica Piquet Carneiro – Hospital Universitário Pedro Ernesto e UERJ no período de 2020 a 2022.

2.2 Específicos

Os objetivos específicos são:

- a) descrever a epi epidemiologia e geodistribuição das linhagens do SARS-CoV-2, em uma coorte de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro, no estado do Rio de Janeiro no período de abril 2020 a janeiro de 2022;
- b) avaliar o perfil epidemiológico entre os diferentes profissionais, considerando aspectos clínicos, sociodemográficos e variáveis ocupacionais juntamente com sua percepção de risco contaminação por SARS-CoV-2; e
- c) avaliar os aspectos clínicos da infecção prolongada e reinfeção pelo SARS-CoV-2 – Estudo de caso.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Área e local do estudo

As amostras desse estudo foram coletadas na PPC e HUPE da UERJ. As amostras foram processadas no HLA-UERJ até setembro de 2020 e a partir dessa data em parceria com o Centro de diagnóstico COVID-19 da FIOCRUZ, que se tornou referência no diagnóstico às pessoas infectadas pelo vírus SARS-CoV-2. Projeto aprovado pelo CONEP (CAEE: 30135320.0.0000.5259).

3.2 População do estudo

A população do estudo engloba todos os casos com diagnóstico confirmado para COVID-19 que tiveram resultado detectado confirmado por qRT-PCR para SARS-CoV-2 entre o período abril de 2020 e janeiro de 2022.

3.3 Critério de inclusão

Foram incluídos os casos de COVID-19 confirmados por qRT-PCR (valor de Ct ≤ 36), de ambos os sexos, com idade mínima de 18 anos.

3.4 Critério de Exclusão

Foram excluídos os casos com idade inferior a 18 anos, amostras fora do padrão para sequenciamento (valor de Ct >36), amostras sem cobertura para análise de variantes por sequenciamento.

3.5 Fonte de dados

A PPC elaborou uma ficha de atendimento (Anexo A) para o cadastro dos casos suspeitos de COVID-19. A ficha contém informações demográficas, sinais e sintomas apresentados, comorbidades, histórico de testagens anteriores, além das informações referente as doses das vacinas (a partir de 2021). Esses dados foram utilizados para elaboração do sistema de informação de vigilância epidemiológica da PPC e serviu como base para os dados desse estudo.

3.6 Variáveis do estudo

Com base nas fichas de atendimento dos casos, foi utilizada a variável sexo, com as categorias masculino e feminino, e Raça/Cor, com as categorias branca, parda, preta, amarela e indígena com base na autodeclaração. A ausência dessa informação foi categorizada como sem informação (S/I). Os dados de categoria/profissão foram reclassificados como profissionais da saúde, outros profissionais e alunos. A ausência dessa informação foi categorizada como sem informação (S/I). Para os dados de sintomas e comorbidades, foram contabilizados os casos que marcaram como afirmativo para uma ou mais variáveis. Os dados de altura e peso foram utilizados para calcular o valor do IMC ($\text{peso}/\text{altura}^2$) seguindo as categorizações propostas pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM): abaixo do peso ($<18,5 \text{ kg/m}^2$); normal ($18,5$ e $24,9 \text{ kg/m}^2$); sobrepeso ($25,0$ e $29,9 \text{ kg/m}^2$); obesidade leve - classe 1 (30 a $34,9 \text{ kg/m}^2$); obesidade moderada - classe 2 (35 a $39,9 \text{ kg/m}^2$); obesidade grave ou mórbida - classe 3 ($\geq 40 \text{ kg/m}^2$) (HALPERN et al., 2022).

3.7 Obtenção das amostras

As amostras de swab nasofaríngeo foram coletadas em tubos tipo Falcon contendo 3 mL de meio de transporte viral (VTM) comercial (LB – Laborclin) ou soro fisiológico, e mantidas sob refrigeração (4°C) por no máximo 72h até seu processamento. O material foi enviado ao HLA-UERJ para realização das etapas posteriores.

3.8 Obtenção RNA viral

O material colhido foi aliqotado em tubo *ependorff* de 1,5mL e utilizado 200µl da amostra na etapa de extração de RNA. Para essa etapa foi utilizado o kit comercial Bio gene DNA/RNA viral (Bioclin®), cujo método consiste em extração por membrana de sílica que permite isolamento e purificação de DNA/RNA viral. Os extraídos foram eluidos em 70 µL de cada amostra conforme recomendação do kit, e armazenados em -80C até o preparo da reação de qRT-PCR.

3.9 Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa quantitativa (qRT-PCR) do SARS-CoV-2

Para a realização da qRT-PCR foram utilizados 5 µL do RNA previamente extraído e adicionado a 10 µL da mistura de reação contendo o alvo/*primer* E (envelope viral) e Rp (controle humano) do Kit molecular SARS-Cov-2 (Bio-manguinhos), conforme as recomendações do fabricante. As reações de transcrição reversa e amplificação foram realizadas em termociclador Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR System ou QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, EUA) e programado para 50° C/15min; 95 °C/2min, 95 °C/20s, 58 °C/30s (45 ciclos), conforme recomendações do fabricante.

3.10 Parâmetro de configuração do qRT-PCR

Para a configuração dos parâmetros de qRT-PCR com o Kit molecular SARS-Cov-2 E (Bio-manguinhos) foi ajustado o *Threshold* (Ct) para limite fixo em 0,2 (gene E) e 0,15 (controle humano RP) e *baseline Start/End* com intervalo entre 3–15.

O Ct de cada análise foi considerado para comparação dos dados. Em cada conjunto analítico, um controle negativo e um positivo foram executados em paralelo com as amostras.

3.11 Interpretação dos resultados qRT-PCR

As amostras foram consideradas detectadas quando valor dos alvos E, atingiu Ct até 40 ciclos. O valor do controle interno RP do kit foi considerado válido quando $Ct \leq 35$.

3.12 Seleção e sequenciamento NGS e análise de dados

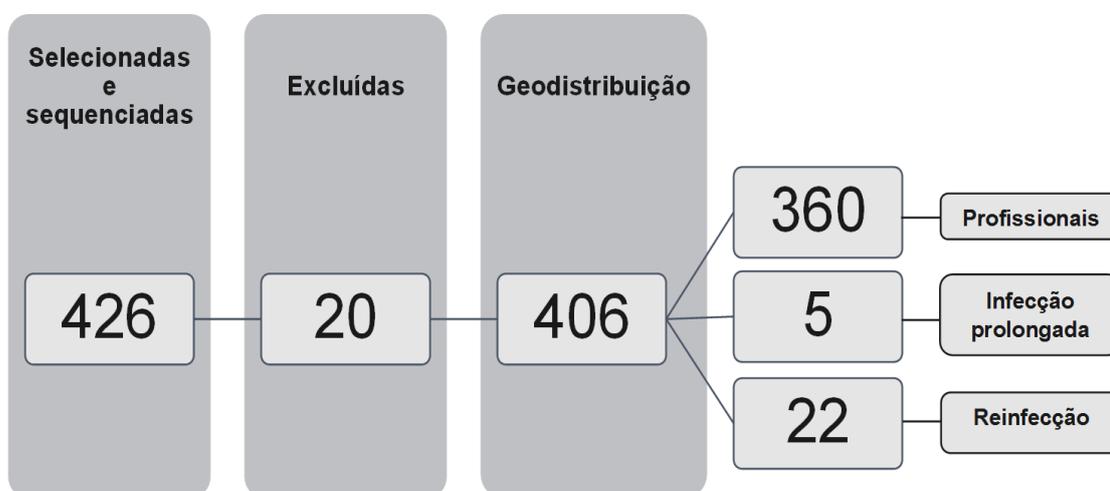
O laboratório elaborou banco de dados para auxiliar no monitoramento e futuros estudos epidemiológicos.

Os critérios de inclusão para este estudo foram pacientes com faixa etária acima de 18 anos, que teve resultado positivo para qRT-PCR para SARS-CoV-2, e que apresentaram valor de $Ct \leq 36$.

Foram selecionadas 426 amostras de pacientes atendidos na Policlínica Piquet Carneiro que apresentaram resultado qRT-PCR detectado para COVID-19, entretanto, ao final, 20 amostras foram excluídas das análises, por não apresentarem resultado/cobertura válida para o sequenciamento e não atenderem os critérios de idade mínima de 18 anos. Com isso, 406 amostras de *swab* nasofaringe foram designadas ao estudo de Geodistribuição das linhagens dentro da coorte. Dessas, 360 foram direcionadas ao estudo do perfil epidemiológico dos profissionais atendidos

na PPC e tendo em vista as análises filogenéticas realizadas com amostras do Rio de Janeiro, optamos por selecionar prioritariamente amostras de pacientes com reinfeção ou com infecção superior a 15 dias; foi possível identificar 11 pacientes com mais de uma amostra coletada totalizando 22 amostras para reinfeção e 2 pacientes com infecção prolongada (sendo 1 paciente com 2 amostras e 1 com 3 amostras (Figura 7).

Figura 7 – Fluxograma de seleção das amostras da coorte



Fonte: A autora, 2022.

As etapas da síntese de cDNA, enriquecimento, amplificação, preparo da biblioteca e indexação foram realizados com o kit QIAseq DIRECT SARS-CoV-2 conforme a recomendação do fabricante. Para a etapa da síntese de cDNA foram utilizados 5 µL de RNA viral extraído de cada amostra e 15 µL do mix para transcrição reversa, totalizando 20 µL da reação. Os parâmetros do ciclo térmico transcrição por RT-PCR foram os seguintes; 25°C por 10 min, 42°C por 50 min, 85°C por 5 min e 4°C final. Para melhorar a performance do sequenciamento foi adicionado a etapa de enriquecimento com *Enhanced* QIAseq Direct. Os processos de amplificação, lavagem com *beads* magnéticas e indexação foram realizados conforme a bula do kit. Os fragmentos da biblioteca foram quantificados usando o ensaio de alta sensibilidade Qubit dsDNA (ThermoFisher, EUA) e seus comprimentos foram estimados usando o sistema TapeStation (Agilent). O sequenciamento foi realizado na plataforma NexSeq 500, com *flowcell* de NextSeq™ Mid Output Flow Cell v2.5 (300 ciclos) (Illumina, EUA).

O preparo das bibliotecas e análise dos dados foram realizadas na Unidade de Genômica DFA/LNCC do projeto Corona-ômica-RJ.

3.13 Análise filogenéticas

Os dados FASTq das amostras de sequenciamento foram tratados e alinhados ao genoma de referência de Wuhan-Hu-1 (NC_045512.2) usando software BWA v0.7.17. A identificação da linhagem foi realizada com auxílio da ferramenta online Pangolin v3.0.6 (Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINEages) disponível no site <https://cov-lineages.org/>. Para confirmar estas classificações e contextualizar os dados, foi realizado reconstruções filogenéticas. As sequências foram alinhadas ao genoma WH01 (número de acesso EPI_ISL_406798 na plataforma GISAID) utilizando o software MAFFT v.7 (KATO; STANDLEY, 2013) com as opções --auto e --add-fragments. O alinhamento gerado foi utilizado para gerar uma árvore filogenética por máxima verossimilhança com o software IQTREE-2 (MINH et al., 2020) com 10000 réplicas de ultrafast bootstrap (HOANG et al., 2018). O modelo de substituição utilizado foi selecionado através do algoritmo ModelFinder (KALYAANAMOORTHY et al., 2017) embutido no programa. O número de substituições por sítio da árvore resultante foi correlacionado à data de coleta das amostras utilizando o software TempEst (RAMBAUT et al., 2016) com o fim de se analisar a taxa evolutiva das diferentes linhagens observadas.

O alinhamento também foi utilizado para gerar uma árvore com os tempos de divergências datados. Para isto, foi utilizado o software BEAST v1.10.4 (SUCHARD et al., 2018) de reconstrução filogenética por métodos bayesianos. Foi utilizado o modelo GMRF Bayesian Skyride de variação populacional, o modelo de relógio molecular relaxado não-correlacionado para as taxas evolutivas, e o modelo GTR de substituição molecular com frequências de bases calculadas empiricamente com sítios invariantes e 4 categorias Gamma. Para o cálculo da Cadeia de Markov Monte Carlo foram utilizadas duas cadeias de 100000000 elos, com amostragem a cada 10000. Ao combinar as duas cadeias geradas, mantivemos apenas as últimas 12000 amostras

da cadeia. As análises filogenéticas foram realizadas pela Unidade de Genômica DFA/LNCC.

3.14 Seleção e detecção de anticorpos de SARS-CoV-2

Os títulos de anticorpos foram avaliados no soro ou plasma dos participantes utilizando o ensaio SARS-CoV-2 IgG II Quant para detecção de anticorpos da classe de imunoglobulinas G (IgG) contra o domínio de ligação ao receptor (RBD) na subunidade S1 da proteína S do SARS-CoV-2. O ensaio foi realizado de acordo com as recomendações do fabricante na plataforma ARCHITECT i System do fabricante Abbott. Este é um imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (CMIA) qualitativo e semi-quantitativo com ponto de corte de 50,0 UA/mL, sendo <50,0 Negativo e $\geq 50,0$ Positivo (Intervalo de detecção 6,8 – 80,000 AU/ml). Os testes foram realizados em colaboração na Unidade de Apoio ao Diagnóstico Covid-19 (UNADIG) na Fiocruz-RJ. Os títulos de anticorpos neutralizantes foram avaliados através do imunoensaio Lumit SARS-CoV-2 Spike RBD:ACE2 conforme a orientação do fabricante Promega. Os valores de luminescência de todas as amostras Lumit foram convertidos em porcentagem com intervalo de 0 – 100%. Os testes foram realizados em colaboração com Professor Dr. Orlando da Costa Ferreira Junior, do LVM na UFRJ-RJ.

3.15 Estatística

Este estudo é uma mistura de séries de casos observacionais e descritivos, cujo dados foram apresentados em tabelas e gráficos compostos distribuição da frequência com média, mínimo, máximo, além de desvio padrão através de fórmulas desenvolvidas no programa Microsoft Excel.

Foi criado um banco de dados com as informações extraídas das fichas de atendimento de todos os casos suspeitos de COVID-19, as variáveis foram cadastradas numa planilha eletrônica.

Também foi realizado o teste-t de Welch para a correlação do acúmulo de mutações apresentados pela linhagem Ômicron com a titulação dos anticorpos circulantes dos pacientes.

O programa da Microsoft Excel e Access foram utilizados para cruzamento e uniformidade dos dados. O programa Microsoft PowerBI. (versão desktop) foi usado para elaboração de gráficos, planilhas e geodistribuição das linhagens. Também foi utilizado o *plugin* Gantt 2.2.3 para elaboração de linha do tempo (do inglês *Timeline*).

4 RESULTADOS

4.1 Geodistribuição e linhagens do SARS-CoV-2 em amostragem da Policlínica Piquet Carneiro - UERJ

Das 406 amostras sequenciadas nesse estudo, foi possível obter informação da cobertura e mapeamento das bases em 97% das amostras, o número de leituras pareadas variou de 63% a 98%.

O valor médio de Ct obtido através da técnica de qRT-PCR das amostras sequenciadas foi 21,9 (min: 14, max: 36 e mediana: 22).

Considerando a nomenclatura proposta pela OMS, 379 genomas foram classificados como VOC Alfa (0,5%), Gamma (24,9%), Delta (29,1%), Zeta (11,3%) e Ômicron (27,6%), os outros 27 pertencem as linhagens germinativas.

Os genomas do SARS-CoV-2 recém sequenciados foram atribuídos à 16 linhagens diferentes (tabela 1).

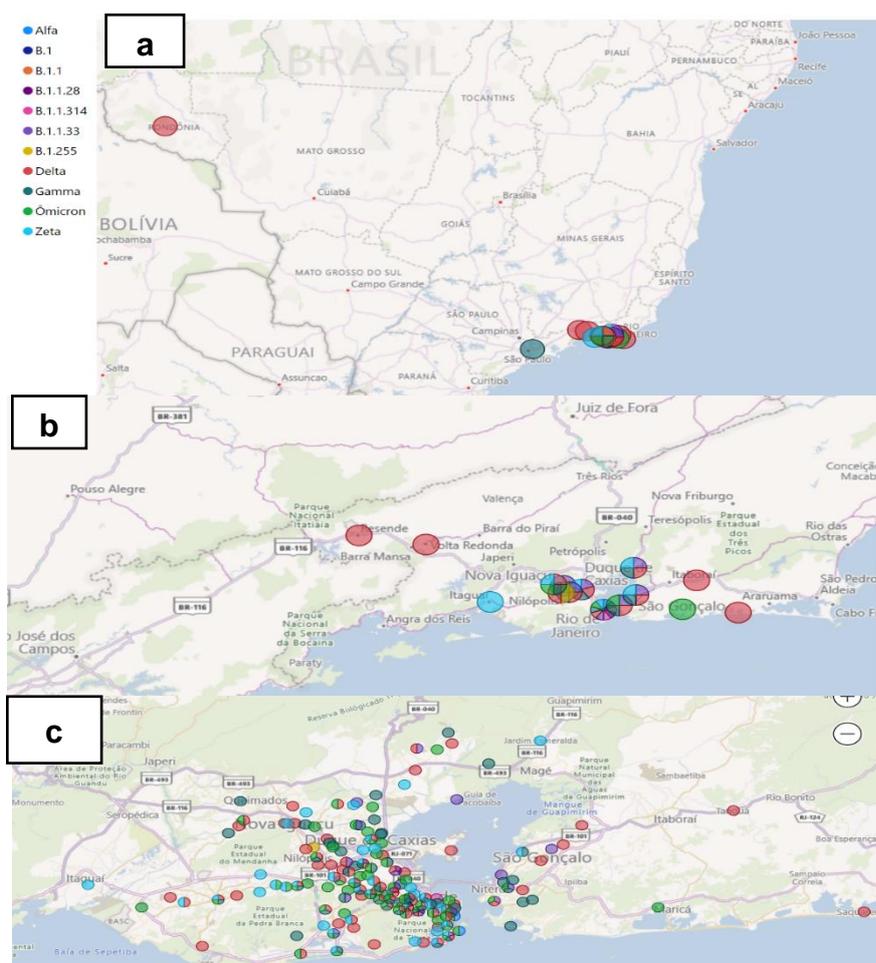
Tabela 1 – Frequência das Linhagens SARS-CoV-2 em circulação dentro da coorte no período de 2020 a 2022 (n=406)

Linhagem		N	Prevalência (%)
	B.1	1	0,2
	B.1.1.314	1	0,2
	B.1.255	1	0,2
Gamma	P.1.10	1	0,2
Gamma	P.1.2	1	0,2
Delta	AY.43.2	1	0,2
	B.1.1	1	0,2
Alfa	B.1.1.7	2	0,5
Delta	AY.122	2	0,5
	B.1.1.28	4	1
Gamma	P.1.9	5	1,2
	B.1.1.33	19	4,7
Zeta	P.2	46	11,3
Gamma	P.1	94	23,2
Ômicron	BA.1	112	27,6
Delta	AY.99.2	115	28,3

Fonte: A autora, 2022.

A maioria pertencente a Delta (AY.99.2) (n=115; 28,3%), Ômicron (BA.1) (n=112; 27,6%) e Gamma (P.1) (n=94; 23,2%). Outras linhagens foram encontradas em menor frequência, Alfa (B.1.1.7) (n=2; 0,5%), B.1 (n=1; 0,2%), B.1.1 (n=1; 0,2%), B.1.1.28 (n=4; 1,0%), B.1.1.314 (n=1; 0,2%) ,B.1.1.33 (n=19; 4,7%), B.1.255 (n=1; 0,2%), Delta (AY.122) (n=2; 0,5%), Delta (AY.43.2) (n=1; 0,2%), Gamma (P.1.10) (n=1; 0,2%), Gamma (P.1.2) (n=1; 0,2%), Gamma (P.1.9) (n=5; 1,2%) e Zeta (P.2) (n=46; 11,3%). A maioria das amostras eram do estado do Rio de Janeiro (n=404; 99,5%) seguido de São Paulo (n=1; 0,2%) e Roraima (n=1; 0,2%). O estado do Rio de Janeiro é dividido em 9 regiões conforme o mapeamento do governo do estado, a distribuição das amostras se encontra descritas na Figura 8.

Figura 8 - Geodistribuição das linhagens de SARs-CoV-2



Legenda: Distribuição das amostras em três estados RO, SP e RJ do período de 2020 a 2022 (A), Linhagens por município do Rio de Janeiro (B) Linhagens por bairros do estado do Rio de Janeiro (C).

Fonte: A autora, 2022.

A frequência relativa das linhagens (Tabela 2) revelou que Ômicron (BA.1) foi a mais abundante na região Metropolitana I. Já na região Metropolitana II, a linhagem Gamma (P.1) teve maior frequência (1,7%).

Tabela 2 - Frequência das Linhagens SARS-CoV-2 em circulação no período de 2020 a 2022

Região de residência/ Municípios	Linhagem	N	Prevalência (%)
Rio de Janeiro			
<u>Médio Paraíba</u>			
(Resende, Volta Redonda)	Delta (AY.99.2)	2	0,50
<u>Baixada Litorânea</u>			
(Saquarema)	Delta (AY.99.2)	1	0,25
<u>Metropolitana I</u>			
(Rio de Janeiro, Duque de	B.1	1	0,25
Caxias, Belford Roxo	B.1.1	1	0,25
Nova Iguaçu, São João de	B.1.1.314	1	0,25
Meriti, Nilópolis, Magé, São	B.1.255	1	0,25
João de Meriti, Itaguaí)	Gamma (P.1.10)	1	0,25
	Gamma (P.1.2)	1	0,25
	Delta (AY.122)	2	0,50
	Alfa (B.1.1.7)	2	0,50
	B.1.1.28	5	1,24
	Gamma (P.1.9)	5	1,24
	B.1.1.33	13	3,22
	Zeta (P.2)	45	11,14
	Gamma (P.1)	86	21,29
	Delta (AY.99.2)	106	26,24
	Ômicron (BA.1)	108	26,73
<u>Metropolitana II</u>			
(Niterói, Tanguá, São	Delta (AY.43.2)	1	0,25
Gonçalo, Maricá)	Zeta (P.2)	1	0,25
	Ômicron (BA.1)	4	0,99
	Delta (AY.99.2)	5	1,24
	B.1.1.33	5	1,24
	Gamma (P.1)	7	1,73
Roraima			
São Miguel do Guaporé	Delta (AY.99.2)	1	0,25
São Paulo			
Guarulhos	Gamma (P.1)	1	0,25

Fonte: A autora, 2022.

Os dados sequenciados foram comparados com o período de introdução das linhagens no estado do Rio de Janeiro (Figura 9 em azul). É possível observar que as

amostras sequenciadas estão dentro do período de permanência das linhagens no Rio de Janeiro (Figura 9 em cinza).

Os dados do Rio de Janeiro foram obtidos do painel coronavírus COVID-19 no site <https://www.genomahcov.fiocruz.br/dashboard-pt/> através da organização da vigilância genômica no estado em parceria com Rede Genômica Fiocruz e/ou depositados na plataforma GISAID por outras instituições a partir de amostras brasileiras.

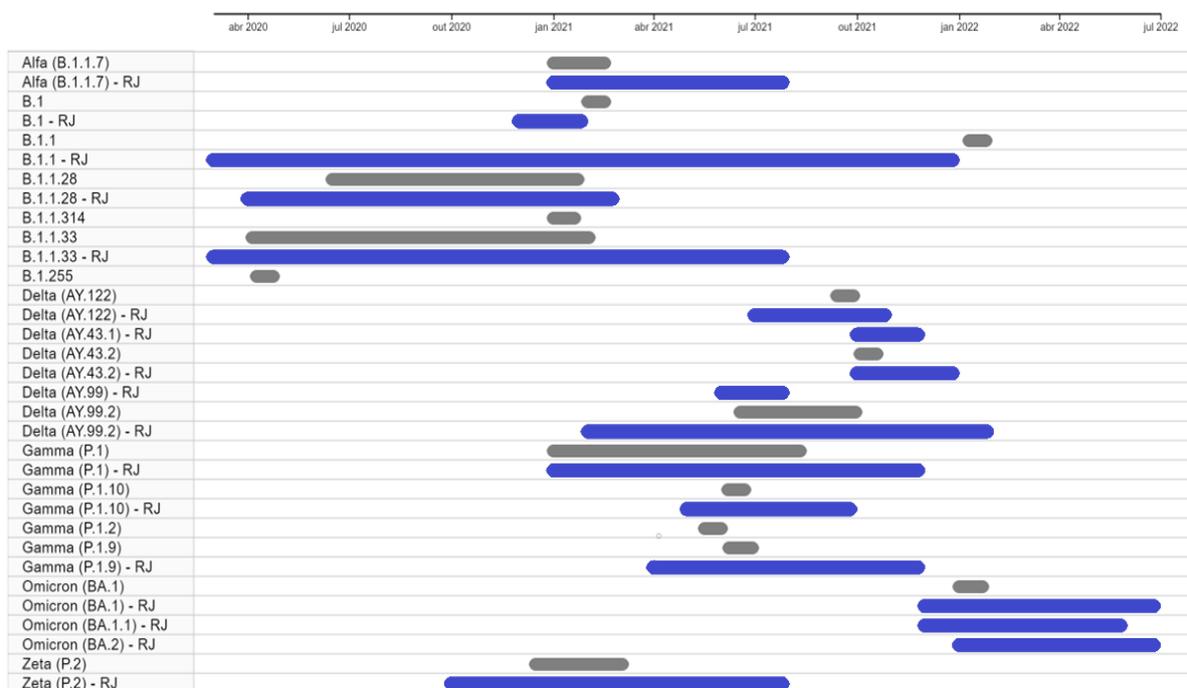
Após a introdução do SARS-CoV-2 no estado (Figura 9, linha azul), as primeiras linhagens identificadas a partir de março de 2020 foram B.1.1, B.1.1.33 e B.1.1.28, nomeadas como linhagens germinativas. Em outubro de 2020 foi observado a introdução da linhagem Zeta (P.2) e em janeiro de 2021 as linhagens Alpha (B.1.1.7) e Gamma (P.1) tiveram forte presença no estado. A linhagem Delta (AY.99.2) teve início em fevereiro de 2021, e em julho de 2021 surgiu uma nova linhagem Delta (AY.122). A linhagens Ômicron (BA.1) surgiu em dezembro de 2021 e segundo os dados da secretaria estadual da saúde, a linhagem permanece com 50 mutações de aminoácidos em seu genoma (HUANG et al., 2022).

Dentro desse estudo, os dados se mostraram condizentes com o surgimento das linhagens no estado do Rio de Janeiro. A primeira linhagem identificada foi B.1.1.33 que foi reconhecida 30 dias após sua introdução no estado e a linhagem B.1.1.255 em abril de 2020 que não foi identificada nos dados do painel coronavírus COVID-19 do Estado do Rio de Janeiro. A linhagem B.1.1.28 surgiu em junho de 2020, 2 meses após a propagação no estado. A linhagem Zeta (P.2) surgiu apenas em dezembro de 2020 dentro da nossa amostragem. As linhagens Alpha (B.1.1.7) e Gamma (P.1) surgiram dentro do mesmo período da introdução no estado.

Em meados de maio de 2021, houve a introdução de três linhagens Gamma P.1.2, P.1.10 e P.1.9, seguido das linhagens Delta AY.99.2, AY.122, AY.43.2 e Ômicron (BA.1) se destacando principalmente de janeiro de 2022.

Observamos na Figura 9 que as amostras desse estudo foram identificadas dentro do período de introdução das linhagens no estado do Rio de Janeiro.

Figura 9 - Mapa linha do tempo do início da distribuição das linhagens (n=406) dos casos da Piquet Carneiro comparado as linhagens encontradas no estado do Rio de Janeiro

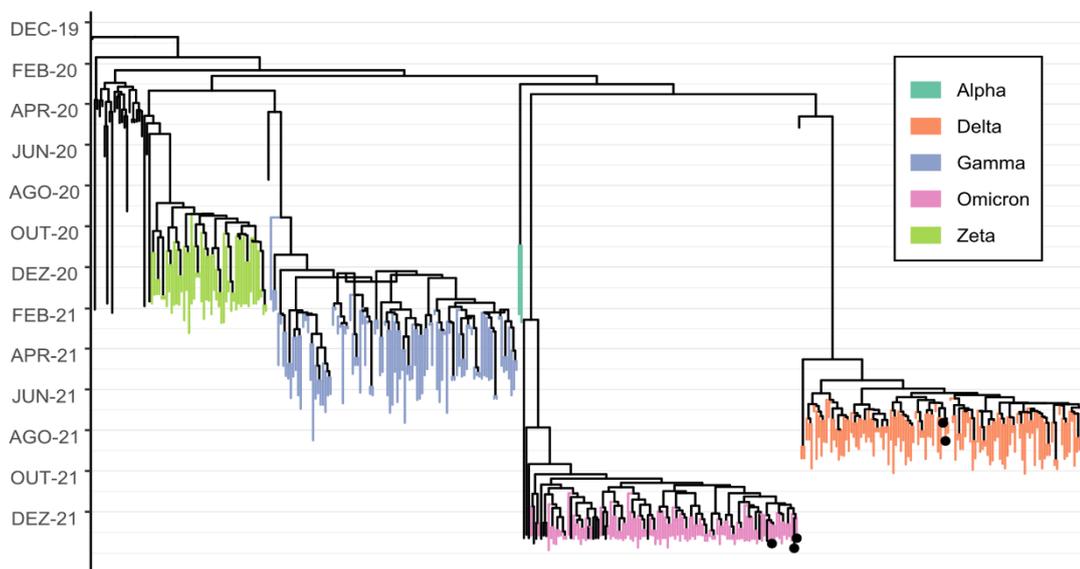


Legenda: Amostras sequenciadas do painel geral do RJ (azul) e amostras complexo UERJ vinculadas ao estudo (cinza).

Fonte: FIOCRUZ, [2022?]

Foi realizada a datação dos tempos de divergência evolutiva entre as amostras (Figura 10) de cada cepa. As cores nos ramos da árvore filogenética indicam a inserção das linhagens VOC, enquanto os ramos sem cor são as sequências de cepas germinativas (não VOC/VOI). O ponto preto no grupo Delta e Ômicron pertence a amostras de dois pacientes com infecção prolongadas de 18 e 29 dias que será discutida mais adiante.

Figura 10 - Árvore filogenética das linhagens encontradas na amostragem dos pacientes da PPC e HUPE de 2020 a 2022 (n=406)



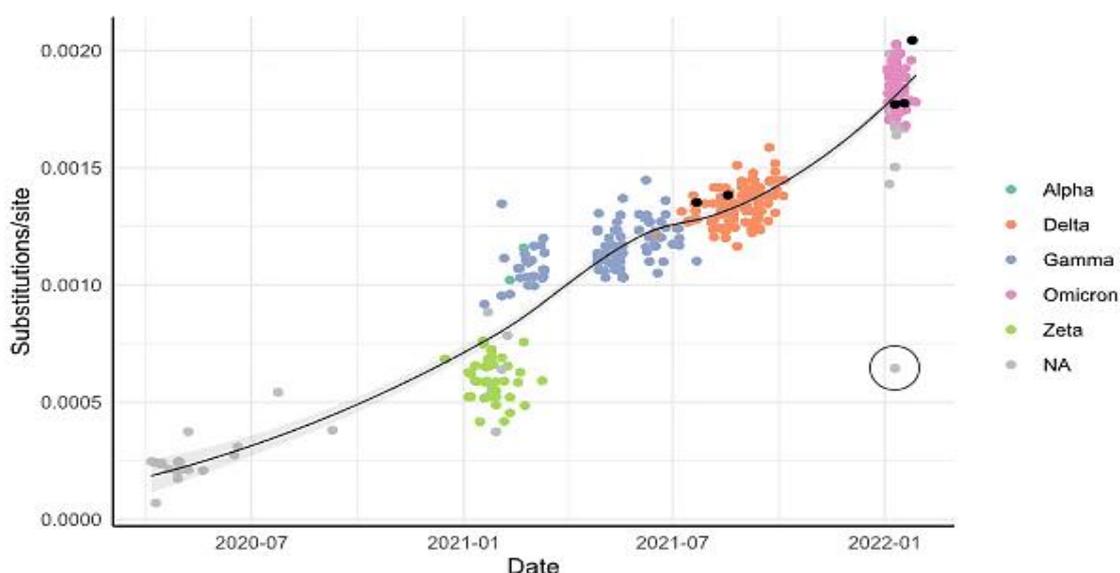
Nota: Os pontos negros indicam amostras do mesmo paciente com infecção prolongada.
Fonte: A autora, 2022.

Nota-se que durante o processo evolutivo, uma linhagem substitui a outra no decorrer do tempo. As linhagens predominantes circulando no início da pandemia foram B.1.1.28 e B.1.1.33 (cepas germinativas) destacadas em abril de 2020, seguidas pela linhagem de Alpha, Gamma e Zeta (P.2) descendentes do mesmo ancestral (B.1.1.28). Além disso, a linhagem Alpha mostra ser do clado B.1 que originou a linhagem Zeta, que posteriormente é substituída pela Delta em junho de 2021.

Destacamos aqui a alta disseminação e circulação da variante Delta e, em particular, da linhagem AY.99.2 que mostrou predominância em 28,3% dos casos nesse estudo. A linhagem Ômicron ramificou-se do mesmo clado proveniente da linhagem Delta, dando início a nova cepa (BA.1) em janeiro de 2022. Nota-se que as sequências agrupadas pertencente a linhagem Ômicron (BA.1) apresentam ramos curtos da base da árvore filogenética com alongamentos ao final, retratando a duração de tempo de evolução que ocorre em uma sequência genética, o que sugere que o número de transmissões não acompanhou o número de mutações iniciais. A transmissão da BA.1 foi em curto intervalo de tempo, que significa que não houve tempo suficiente para o vírus acumular mutação entre as transmissões, diferentemente das outras linhagens apresentadas nesse estudo. Esse fato pode ser

confirmado na Gráfico 1, onde é observado elevado acúmulo de mutações da linhagem Ômicron em janeiro de 2022. Também pode ser observado nesse gráfico o acúmulo de mutações desde o início das primeiras linhagens (cepas germinativas), sempre que ocorre um salto na aceleração de mutações é observado uma inclinação como exemplo a linhagem Gama que apresenta ter uma inclinação e outra inclinação com a linhagem Ômicron.

Gráfico 1 - Distância evolutiva dos acúmulos de mutações das linhagens SARS-CoV-2 no período de abril de 2020 a janeiro de 2022



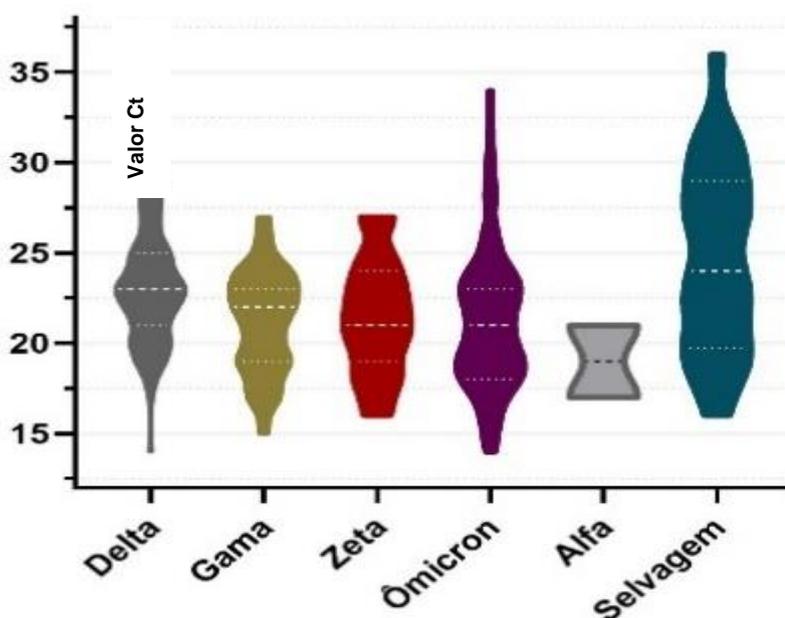
Fonte: A autora, 2022.

Por fim, destacamos a cepa B.1.1 (circulada) que surge ao mesmo tempo que a linhagem Ômicron em janeiro de 2022, com o ponto bem abaixo do grupo de Ômicron, indicando que não teve salto na taxa de mutação, porém é necessária mais investigação das mutações apresentadas para confirmar a inclusão da B.1.1 na VOC Ômicron.

Também avaliamos os valores de Ct (Gráfico 2), representando a média dos principais grupos de linhagens. Nota-se que as linhagens Zeta e Ômicron apresentaram similaridade ao comparar os valores da média entre os grupos, também é possível observar similaridade no valor mínimo de Ct das linhagens Delta e Ômicron, os valores máximos não devem ser considerados (Ômicron e selvagem) já que foi necessária uma seleção prévia para a realização do sequenciamento, mesmo assim

foi possível sequenciar amostras com valores acima do recomendado pelos fabricantes ($Ct \leq 33$).

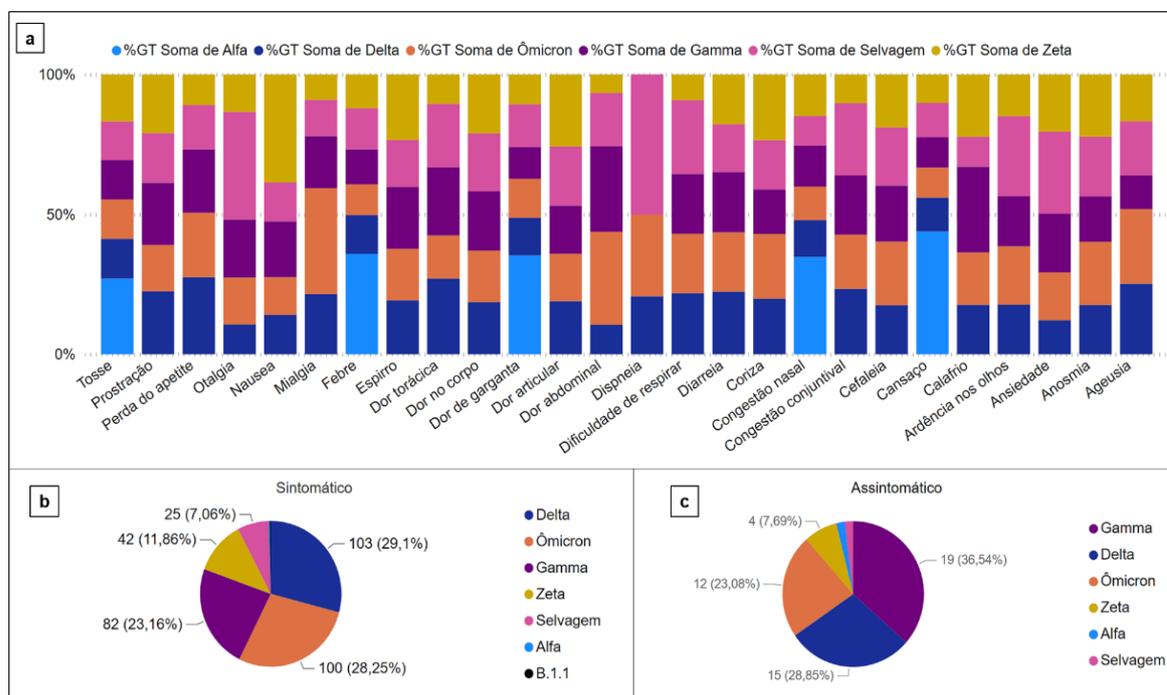
Gráfico 2 – Média dos valores de Ct obtidos por qRT-PCR das diferentes linhagens do SARS-CoV-2 (n=406)



Fonte: A autora, 2022.

Também foram avaliados os principais sintomas relatados pelos pacientes. É possível observar no gráfico 3 que os pacientes que tiveram a linhagem Alfa apresentaram sintomas semelhantes ao da gripe como tosse, febre, dor de garganta, congestão nasal e cansaço (gráfico 3a). Ageusia e anosmia, sintomas característicos da COVID-19, foram pouco observadas em pacientes com a linhagem Gama. Quanto ao número total de sintomáticos, podemos observar no gráfico 3b que os pacientes que se infectaram com a linhagem Delta, apresentaram mais sintomas que os infectados com as linhagens Ômicron e Gama. Quanto aos assintomáticos, é possível observar no gráfico 3c que 36,5% dos pacientes identificados com a linhagem Gama não relataram nenhum sintoma para COVID-19.

Gráfico 3 – Manifestações clínicas descritas por pacientes infectados com as diferentes linhagens de SARS-CoV-2, no período de 2020 a 2022

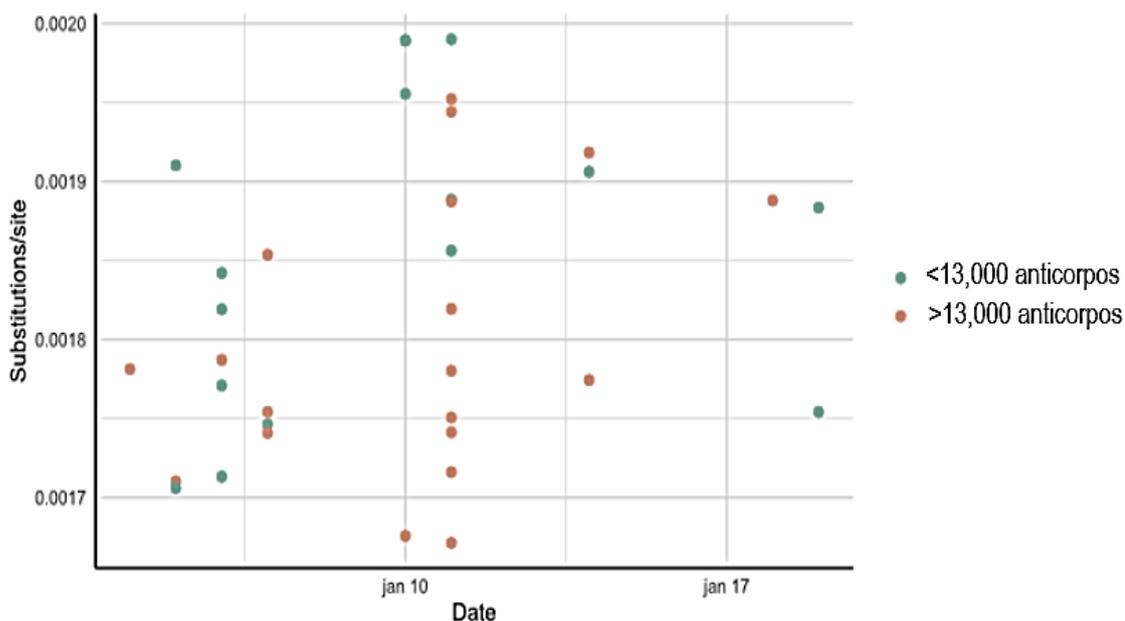


Fonte: A autora, 2022.

O aumento expressivo de casos da doença e o acúmulo de mutações em curto período sugere a Ômicron com alta transmissibilidade, porém a virulência deve ser analisada com cautela pois depende de mais dados clínicos para comprovação.

Por último, foi realizada a correlação somente dos pacientes infectados com a linhagem Ômicron e que tiveram o título de anticorpos medidos antes da infecção (n=36) (Gráfico 4).

Gráfico 4 - Correlação entre a titulação de anticorpos apresentados antes da infecção com acúmulo de mutações dos pacientes infectados com a linhagem Ômicron



Fonte: A autora, 2022.

Em análise visual, os pacientes com titulação de anticorpos circulantes acima de >13,000AU/ml (ponto laranja) apresentaram menos mutações nas sequências genéticas da linhagem Ômicron do que os pacientes com titulação abaixo de <13,000AU/ml (ponto verde). No entanto, ao fazer o Teste-t de Welch, as duas categorias possuem distribuições significativamente diferentes (valor $p < 0.001$). Sendo assim, interpretamos que os anticorpos circulantes não geraram proteção imunológica suficiente para impedir a infecção com a linhagem Ômicron dentro dessa coorte.

4.2 Perfil epidemiológico e aspectos clínicos de diferentes profissionais da coorte de estudo

Entre os 360 pacientes 43,9% (158) eram do sexo masculino e 56,1% (202) do sexo feminino, residentes em 2 estados diferentes (São Paulo e Rio de Janeiro) no

Brasil dentro de 17 municípios, embora 82,2% dos pacientes desse estudo residem da cidade do Rio de Janeiro. A raça/cor autodeclarada predominante nesse estudo foi branca (53,3%, n=192), seguido de pardo (29,2%, n=105) e preto (13,9%, n=50), tabela 3.

Tabela 3 – Descrição das características epidemiológicas dos diferentes profissionais pacientes infectados por SARS-CoV-2

	Variáveis	N	(%)
Faixa etária	1: <35	118	32,8
	2: 36-50	122	33,8
	3: >50	120	33,3
Sexo	Masculino	158	43,8
	Feminino	202	56,1
Raça/cor	Branco	192	53,3
	Pardo	105	29,2
	Preto	50	13,9
	Indígena	1	0,3
	Não Declarado	1	0,3
	Sem informação	11	3,1
Classificação	Profissional da saúde	103	28,6
	Outros profissionais	193	53,6
	Aluno	40	11,1
	Sem informação	24	6,7

Fonte: A autora, 2022.

Dentro dos dados coletados nas fichas dos pacientes, foi analisada a categoria/profissão. As categorias foram nomeadas como profissionais da saúde, outros profissionais, alunos e sem informação (S/I). A variável sem informação da categoria de ocupação, pode resultar em uma subnotificação já que essa informação foi ausente na ficha do paciente, esse dado poderia ser relevante para associar suas atividades laborais com os riscos de exposição ao vírus. Apesar disso, cerca de 28,6% (n=103) são profissionais área da saúde e 53,6% (n=195) pertence a outras classes trabalhadoras.

Dos profissionais de saúde, 22% (n=80) são do sexo feminino e 9,7% (n=35) tem idade entre 36 à 50 anos. Quanto ao sexo masculino, 30% (n=108) pacientes

pertencem a outras classes trabalhadoras e 13,9% (n=50) tem idade superior a 50 anos, os dados com a distribuição dos pacientes conforme a classificação por ocupação se encontra na Tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição dos pacientes pelas variáveis sexo e idade conforme classificação de ocupação

SEXO	Aluno	Outros profissionais	Profissional da saúde	S/I
☐ FEMININO				
1: <35	20	21	27	4
2: 36-50	3	33	35	4
3: >50	1	31	18	5
☐ MASCULINO				
1: <35	12	24	8	2
2: 36-50	3	34	7	3
3: >50	1	50	8	6
Total	40	193	103	24

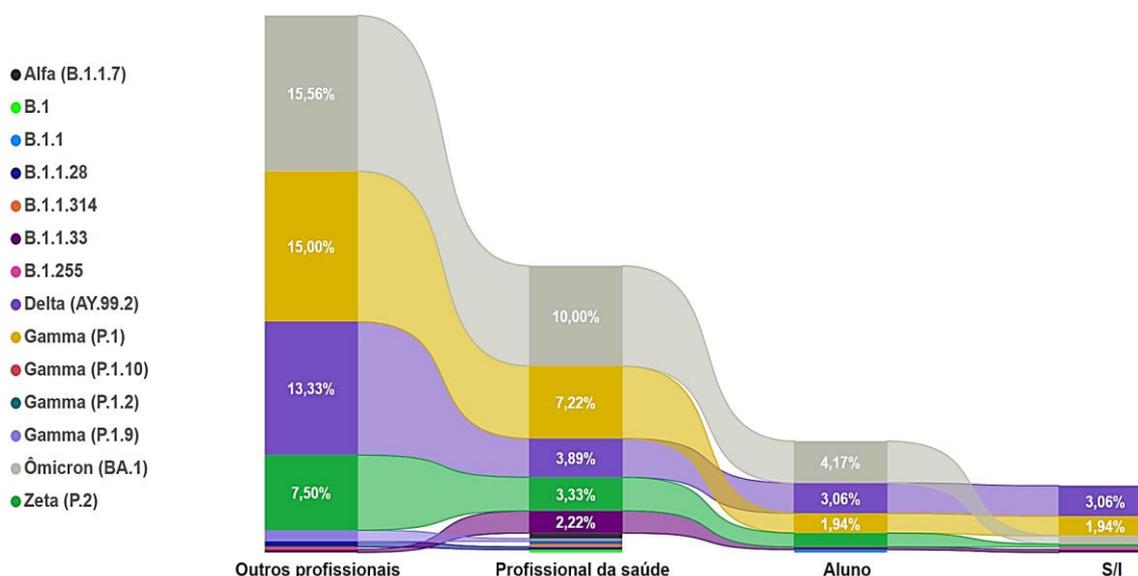
Legenda: Sem informação (S/I).

Fonte: A autora, 2022.

As amostras dos pacientes foram sequenciadas para o vírus SARS-CoV-2 pela tecnologia NGS para determinar as linhagens em circulação. Com base nos resultados encontrados, as linhagens Ômicron (BA.1), Gamma (P.1) e Delta (AY.99.2), apresentaram maior frequência (30,6%, 26,1% e 23,3%) respectivamente, quando comparado as outras linhagens dentro do nosso estudo.

Ao comparar a distribuição das linhagens de SARS-CoV-2 com as categorias de ocupação, é possível observar que a linhagem Delta (AY.99.2) é mais frequente que a linhagem Gamma (P.1) nos indivíduos Alunos e apesar da linhagem Ômicron ser predominante em todas as categorias, não foi prevalente nos indivíduos sem classificação de ocupação. Os resultados indicam maior frequência da linhagem Ômicron (BA.1) no total de amostras selecionadas, porém existe uma expressiva representatividade da linhagem Gamma (P.1) na categoria de outras profissões, bem como entre os profissionais da saúde. A linhagem B.1.1 foi observada somente na categoria Alunos (n=1). Os dados se encontram distribuídos no Gráfico 5.

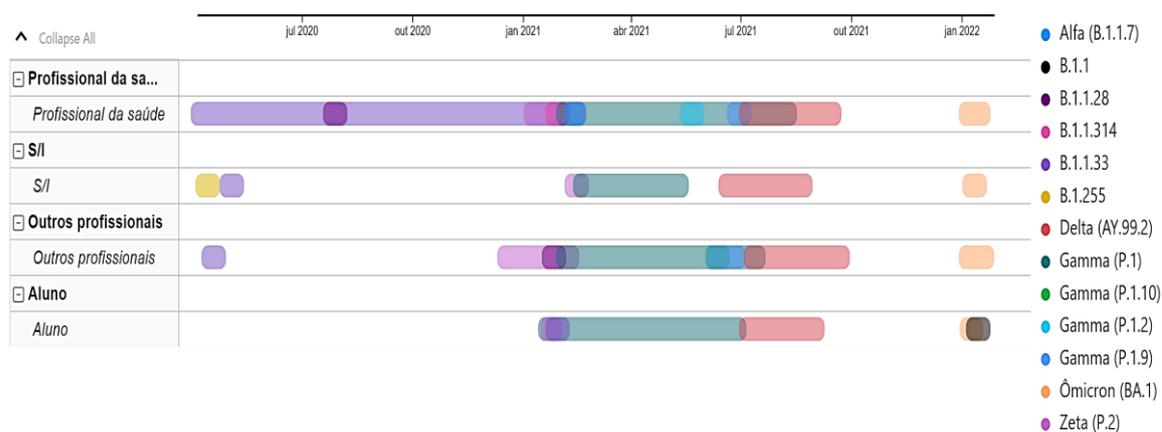
Gráfico 5 - Distribuição das linhagens de SARS-Cov-2 por categoria de ocupação (n=360)



Fonte: A autora, 2022.

A seguir investigamos o início em que cada categoria teve a primeira infecção por SARS-CoV-2. Na análise da linha do tempo foi calculado a duração em que cada categoria ficou exposta a linhagem, Figura 11. Foi “plotado” numa representação gráfica a data da primeira infecção e última de cada categoria para calcular a duração de cada linhagem. Observamos que a linhagem B.1.1.33 foi pioneira entre os profissionais da saúde e os outros profissionais no início da pandemia no Brasil (abril/2020), também observamos que houve indivíduos sem identificação da categoria de ocupação que também se infectaram no período de abril de 2020 com as linhagens selvagens B.1.255 e B.1.1.33. A linhagem Zeta (P.2) que a partir de dezembro de 2020 começou a se tornar evidente entre os outros profissionais, profissionais da saúde e alunos. Em janeiro de 2022, a linhagem Ômicron esteve presente em todas as categorias, porém é possível observar a presença da linhagem B.1.1 surgiu dentro da nossa amostragem no mesmo período da Ômicron, porém somente na categoria aluno.

Figura 11 - Linha do tempo das linhagens de SARS-CoV-2 por categoria de ocupação conforme data de coleta

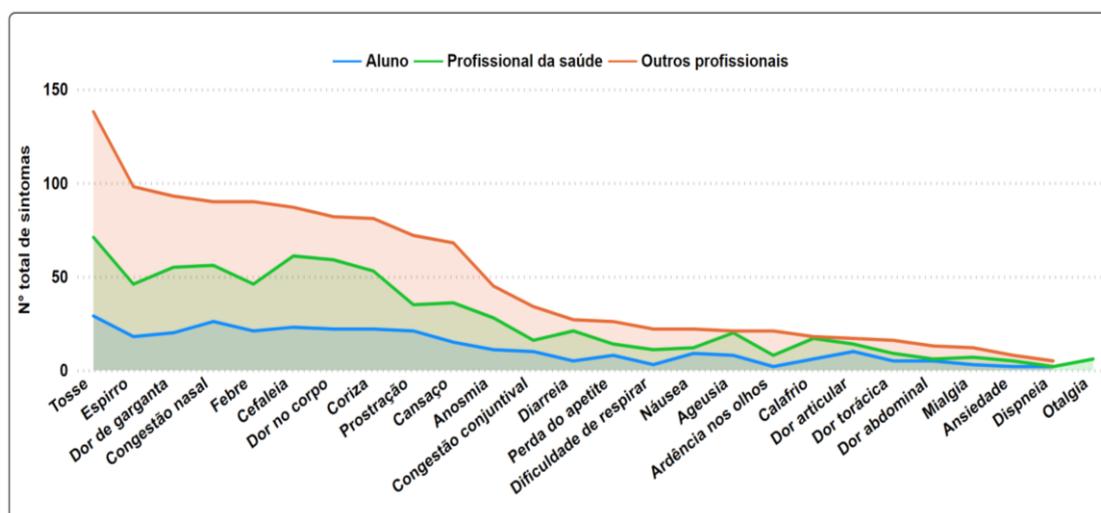


Fonte: A autora, 2022.

Uma análise descritiva dos desfechos clínicos dos grupos foi realizada. Foi avaliado o valor IMC (valor obtido através do cálculo do peso/altura²), valor de Ct referente ao resultado do qRT-PCR, comorbidades e sintomas.

Os sintomas foram descritos no gráfico 6, nota-se que o sintoma tosse foi recorrente para todos os grupos. Sintomas comuns para resfriado como tosse, cefaleia, dor no corpo, congestão nasal, dor de garganta, coriza e espirro, também foram relatados por todos os grupos. Já sintomas mais específicos como dificuldade para respirar, mialgia e dor abdominal foram mais frequentes para os grupos de profissionais da saúde e outros profissionais. Do total de 360 pacientes, cada paciente teve em média 6,8 sintomas durante a infecção (n=346) e 3,9% (n=14) foram assintomáticos.

Gráfico 6 - Distribuição dos sintomas apresentados durante a infecção por SARS-CoV-2 por categoria de ocupação (n=355)



Fonte: A autora, 2022.

O valor de Ct é obtido através do teste qRT-PCR do SARS-CoV-2, esse valor foi associado a gravidade, quanto menor o valor do ct, maior é a carga viral circulante (SHEIKHZADEH et al., 2020). A média do Ct de cada categoria foi calculada, a categoria de alunos obteve o valor de 22,0, outros profissionais apresentaram média de 21,5, profissionais da saúde 21,9 e sem informação de categoria 20,8.

Como se pode verificar na Tabela 5 apresenta a descrição das características clínicas do valor do IMC e principais comorbidades descritas.

Tabela 5 - Descrição das características clínicas dos pacientes infectados por SARS-CoV-2 segundo categoria de ocupação

Variável	Aluno		Outros profissionais		Profissionais da saúde		Sem Informação	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Classificação IMC (n=339)								
Abaixo do peso	2	0,6	3	0,9	2	0,6	1	0,3
Normal	23	6,8	60	17,7	35	10,3	8	2,4
Sobrepeso	9	2,7	62	18,3	30	8,8	6	1,8
Obesidade leve	2	0,6	39	11,5	16	4,7	2	0,6
Obesidade moderada	2	0,6	17	5,0	7	2,1	1	0,3
Obesidade grave ou mórbida	1	0,3	6	1,8	5	1,5		
Comorbidade (n=257)								
Artrose			1	0,4				
Doença celíaca			1	0,4				
Hepatite autoimune					1	0,4		
Hipertireoidismo			1	0,4				
Transplante hepático							1	0,4
Lúpus	1	0,4			1	0,4		
Alergia	1	0,4	2	0,8				
DPOC			3	1,2	1	0,4		
Artrite reumatoide	1	0,4	1	0,4	2	0,8	1	0,4
Bronquite			7	2,7	1	0,4		
Depressão	2	0,8	6	2,3	2	0,8		
Hipotireoidismo	1	0,4	2	0,8	7	2,7		
Doença arterial coronariana	1	0,4	9	3,5	2	0,8	1	0,4
Asma	2	0,8	9	3,5	3	1,2	1	0,4
Sinusite	3	1,2	11	4,3	3	1,2		
Diabetes	1	0,4	12	4,7	4	1,6		
Obesidade	2	0,8	17	6,6	5	1,9		
Rinite	10	3,9	32	12,5	14	5,4	1	0,4
Hipertensão	2	0,8	40	15,6	21	8,2	4	1,6

Fonte: A autora, 2022.

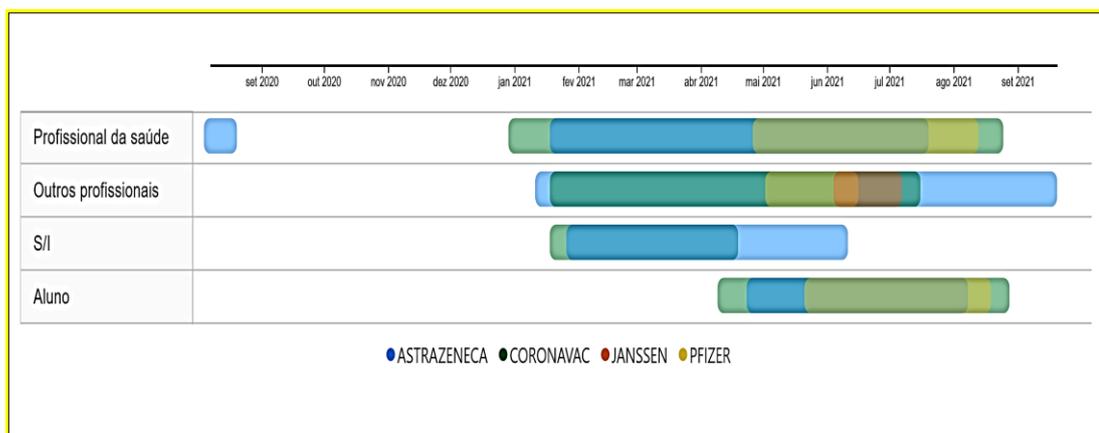
Nota-se que outros profissionais dentro dessa coorte apresentaram a frequência relativa maior de sobrepeso quando comparado à outras categorias. Dentro dos graus de Obesidade, a Obesidade leve (30 a 34,9 kg/m²) foi mais frequente na categoria de outros profissionais e profissionais da saúde, do que os demais indivíduos.

Quanto as comorbidades descritas, os trabalhadores de outras áreas (média=8,1) apresentaram em média 4 comorbidades a mais que os trabalhadores da saúde (média= 3,5). As comorbidades mais relatadas foram hipertensão e rinite, presente em todos os grupos.

A imunização contra COVID-19 passou a fazer parte do programa de imunização do MS a partir de janeiro de 2021, dos 360 pacientes, 61,2% (n=240) se imunizaram com pelo menos uma dose da vacina do COVID-19. As vacinas prevalentes entre os indivíduos foram AstraZeneca e Coronavac, 35,6% (n=128) e 20,8% (n=75), respectivamente, um dado esperado visto que estas foram as primeiras vacinas emergenciais introduzidas no Brasil.

Além da descrição dos desfechos, realizamos uma análise das primeiras doses imunizantes contra COVID-19 aplicada na população desse estudo (Figura 12). 28,8% (n=67) são profissionais da saúde, 53,6% (n=125) são profissionais de outras áreas e 11,6% (n=27) são alunos. Os outros 6% (n=14) pertence a classe dos pacientes que não temos informação da categoria de ocupação. 33,3% (n=120) não preencheram os dados de vacinação na ficha de cadastro.

Figura 12 - Linha do tempo da primeira dose de imunizante contra COVID-19 de acordo com a categoria de ocupação



Fonte: A autora, 2022.

4.3 Estudo de caso: infecção prolongada

Dois indivíduos com infecção prolongada por SARS-CoV-2 foram acompanhados nesse estudo. Os casos prolongados foram definidos como aqueles que permanecem detectados para RNA de SARS-CoV-2 em amostras de nasofaringe por pelo menos 14 dias desde o início dos sintomas. Definimos o tempo de infecção

como o intervalo do início dos sintomas e o último teste qRT-PCR detectado. Testes de sorologia para SARS-CoV-2 também foram realizados para todas as amostras.

Ambos os pacientes moravam na cidade do Rio de Janeiro, sexo masculino, cor branca e profissionais da saúde. Os dados clínicos e demográficos autodeclarados pelos pacientes se encontram na Tabela 6. Os pacientes foram referenciados como ID 26 e 128 ao longo do estudo.

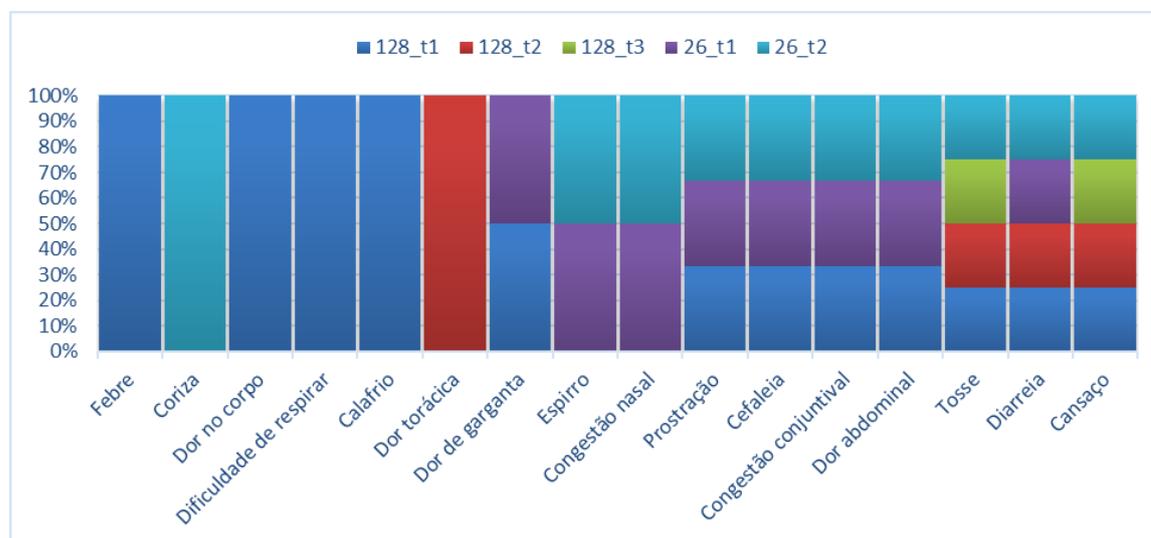
Tabela 6 - Dados demográficos e clínicos dos pacientes com infecção prolongada pelo SARS-CoV-2 (n=2)

ID.	26			128		
Sexo	M			M		
Idade	26			51		
Cor/raça	Branco			Branco		
Profissional da saúde?	Sim			Sim		
Duração da infecção	29			18		
Vacina 1 dose	Sinovac			AstraZeneca		
Vacina 2 dose	Sinovac			AstraZeneca		
N. de infecções	1			1		
Infecção antes/depois da vacina?	depois			depois		
Intervalo entre 2° dose e infecção	140			180		
Dados sequenciamento	VOC	Ct	Cobertura	VOC	Ct	Cobertura
Amostra 1	Delta AY.99.2	20	0,96	Ômicron (BA.1)	15	0,89
Amostra 2	Delta AY.99.2	28	0,97	Ômicron (BA.1)	26	0,97
Amostra 3	-	-	-	Ômicron (BA.1)	34	0,63

Fonte: A autora, 2022.

O intervalo de duração dos sintomas do paciente ID 26 foi de 29 dias e o mesmo relatou 8 sintomas no primeiro tempo (primeira coleta) e 10 sintomas no segundo tempo (segunda coleta). O intervalo entre as coletas foi de 27 dias. Já o intervalo de duração dos sintomas do paciente ID 128 foi de 18 dias, nesse período foram realizadas 3 coletas, na primeira coleta o paciente relatou 12 sintomas, depois 4 e por último 3 sintomas. Os principais sintomas apresentados foram cansaço, diarreia e tosse para ambos os pacientes (gráfico 7).

Gráfico 7 - Caracterização dos sintomas dos pacientes com infecção prolongada por SARS-CoV-2



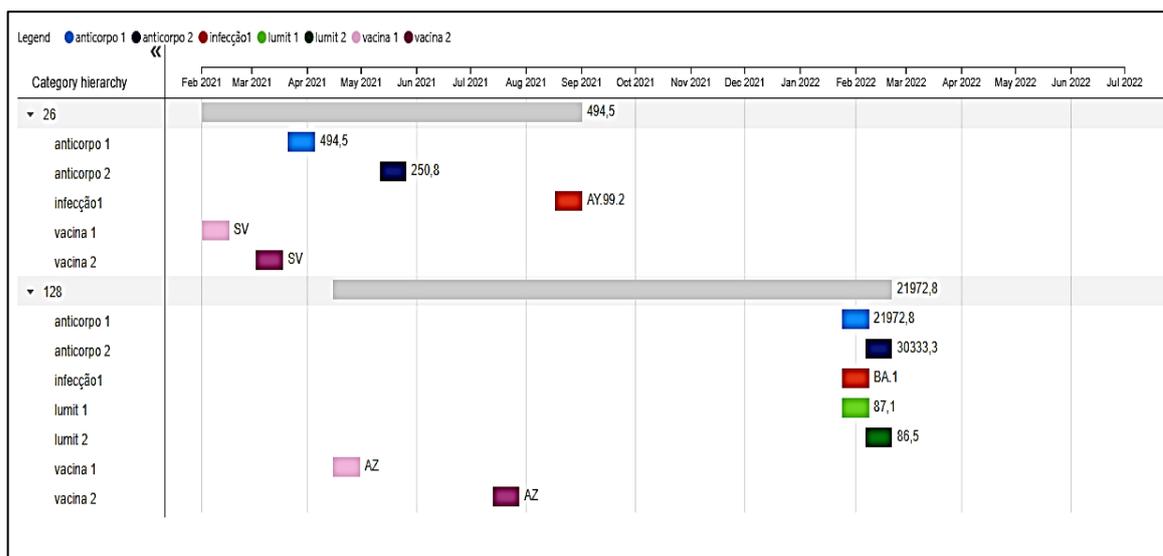
Fonte: A autora, 2022.

O paciente ID 128 não declarou nenhuma condição de saúde preexistente, no entanto ele apresenta IMC 33,8 classificado como grau de obesidade leve, já o paciente ID 26 relatou apresentar hipertensão e IMC 28,7 classificado com sobrepeso.

Como mencionado anteriormente, foi realizado a árvore filogenética para analisar as infecções persistentes. Conforme a Figura 10 (pág. 56), podemos observar claramente os dois/três tempos sequenciados dos pacientes (em preto). O paciente ID 26 apresenta as duas sequências genômicas no mesmo ramo da VOC Delta (AY.99.2) e o paciente ID 128 infectado por Ômicron (BA.1) em janeiro de 2022 apresentou duas sequências similares e uma com mutações adquiridas diferenciando das demais. No entanto, possuem o mesmo ancestral em comum com suporte estatístico de 76% das réplicas de *bootstrap*. Dentro desse grupo, não temos suporte de *bootstrap* suficiente para dizer qual a relação entre as amostras. No Gráfico 1 (pág.57), é observado (ponto preto) essa diferenciação ao analisar o acúmulo de mutações adquiridos ao longo da infecção do paciente ID128, porém esse fato pode ser caracterizado como artefato ou possível erro associado à problema de montagem da sequência, já que o ponto destacado se refere a terceira coleta do paciente ID128 que apresentou profundidade baixa de sequenciamento em algumas regiões e Ct alto (34), dificultando a interpretação do algoritmo para o acúmulo de mutações.

Por fim, foi realizada uma análise temporal de todo percurso de infecção, vacinação e proteção imunológica de ambos os pacientes e os dados podem ser observados na Figura 13.

Figura 13 – Linha do tempo do percurso da infecção pelo SARS-CoV-2 em pacientes com infecção prolongada pela COVID-19 (n=2)



Fonte: A autora, 2022.

De forma resumida, podemos observar que o paciente ID26 recebeu duas doses da vacina e teve a titulação de anticorpo medida em dois tempos depois das doses. Em 51 dias os títulos de anticorpos caíram 49%, e 98 dias depois o paciente foi detectado para VOC Delta (AY.99.2). Já o paciente ID128, recebeu as duas doses da vacina dentro do prazo estimado pelo MS (3 meses), a titulação de anticorpos foi medida no mesmo período da infecção pela linhagem Ômicron (BA.1) com intervalo de 195 dias. O intervalo entre a primeira e segunda titulação de anticorpo foi de 13 dias, apresentando um aumento de 38%. Já a titulação de anticorpos neutralizantes (Lumit) reduziu 1% dentro do mesmo período.

4.4 Reinfecção

Das 406 amostras incluídas nesse estudo, 22 (5%) amostras correspondem a 11 (3%) pacientes que apresentaram quadro de reinfecção e as amostras foram sequenciadas nos dois períodos. Dos reinfectedados, 27% (n=3) eram do sexo masculino e 73% (n=8) do sexo feminino. A média de idade do sexo masculino foi 37, e a média de idade do sexo feminino foi 34. A proporção de cada variante durante o primeiro e segundo episódio de infecção diferiram com a variante B.1.1.33 sendo predominante durante a primeira infecção e variante Ômicron (BA.1) predominante no segundo episódio. O intervalo entre as reinfecções variou de 2 a 20 meses (1 ano e 8 meses). O valor de Ct na primeira infecção variou de 21 a 36 com média de 26,5, (Desvio padrão=5,10) e na segunda infecção de 18 a 36 média com média de 25,1 (Desvio padrão=5,59). A distribuição dos casos de reinfecção é mostrada na Tabela 7.

Tabela 7 – Distribuição de reinfecção por linhagem

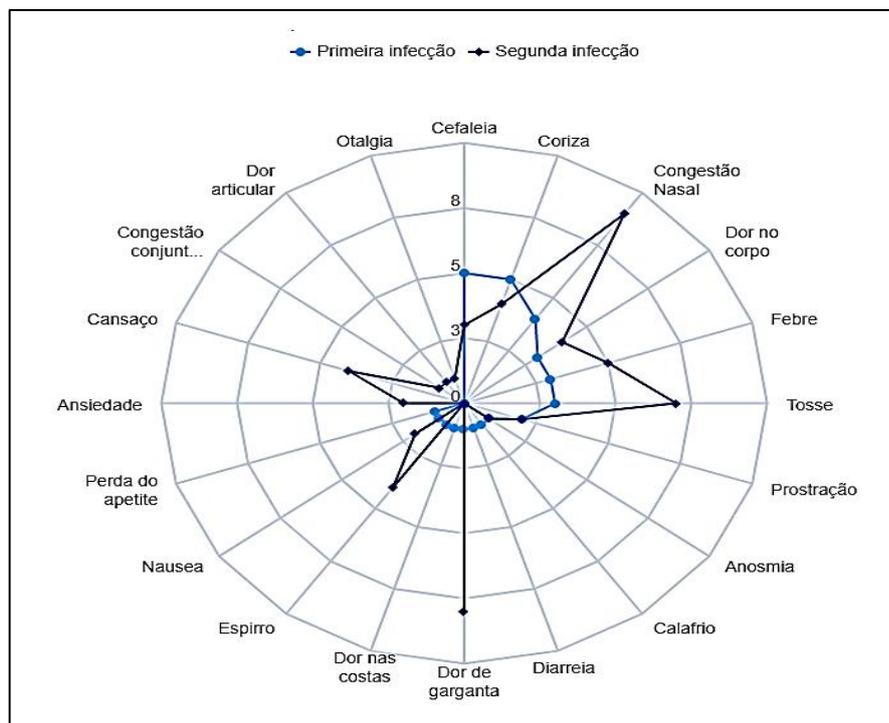
ID (sexo, Idade)	Primeira infecção			Intervalo entre as infecções (meses)	Segunda infecção			Vacina	Intervalo Vac-Infec* (dias)
	Linhagem	Ct	N° Sintomas		Linhagem	Ct	N° Sintomas		
P1-F/35	B.1.1.33	30	6	2	B.1.1.28 Ômicron (BA.1)	29	5	S/I	0
P2-M/48	B.1.1.33	31	0	20	Ômicron (BA.1)	21	9	2 doses	143
P3-F/36	B.1.1.33	23	0	19	Ômicron (BA.1)	23	6	2 doses	320
P4-M/36	AY.99.2**	21	7	5	Ômicron (BA.1)	23	3	2 doses	142
P5-F/21	B.1.1.33	23	5	18	B.1.1 Ômicron (BA.1)	36	13	2 doses	41
P6-F/22	B.1.1.28	27	7	18	Ômicron (BA.1)	25	3	3 doses	77
P7-F/49	B.1.1.33	31	4	20	Ômicron (BA.1)	19	4	2 doses	300
P8-F/56	B.1.1.33	36	0	20	Ômicron (BA.1)	22	5	2 doses	175
P9-F/27	P.2	21	0	10	Ômicron (BA.1)	28	4	2 doses	158
P10-M/32	B.1.1.33	28	4	20	Ômicron (BA.1)	18	2	2 doses	175
P11-F/39	B.1.1.33	21	0	20	Ômicron (BA.1)	32	4	3 doses	26

Legenda:*Intervalo entre a última dose da vacina e reinfecção (dias). **infecção AY.99.2, 32 dias depois da primeira dose imunizante.

Fonte: A autora, 2022.

O total de 8 pacientes receberam 2 doses de imunizantes contra a COVID-19 e 2 receberam 3 doses antes da reinfeção. O intervalo entre as últimas doses de imunizante e a reinfeção variaram de 26 a 320 dias. 10 pacientes nesse estudo tiveram a primeira infecção antes da primeira dose da vacina e a segunda infecção depois das duas doses da vacina, 1 paciente não tivemos informação da vacinação. Os sintomas clínicos apresentados nos dois episódios se encontram demonstrados no gráfico 8.

Gráfico 8 - Características clínicas dos pacientes reinfectados



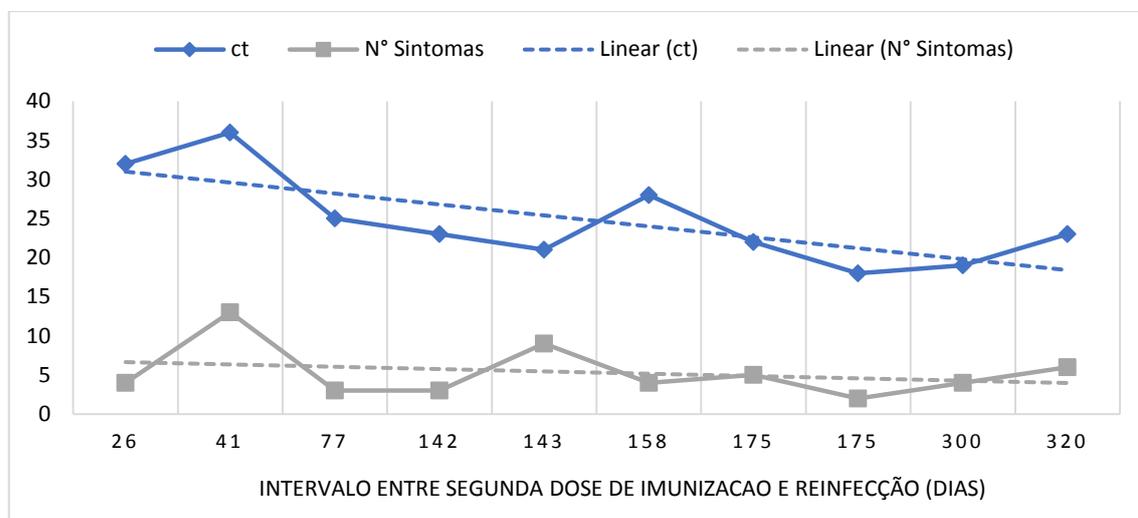
Fonte: A autora, 2022.

Na amostra pareada, a média do número de sintomas foi menor, 1,6 (DP=1,63) na primeira infecção quando a variante B.1.1.28 era predominante, do que na segunda infecção, média 2,9 (DP=2,71) quando a variante Ômicron (BA.1) foi predominante.

Os sintomas relatados com mais frequência foram cefaleia (n=5) e coriza (n=5) na primeira infecção, enquanto na segunda infecção foram congestão nasal (n=9) e dor de garganta (n=8).

Quanto aos dados referentes aos pacientes com duas ou mais de duas doses do esquema vacinal, podemos observar no gráfico 9, que o valor de Ct apresenta tendência de queda conforme o intervalo aumenta entre a vacinação e a reinfeção. O mesmo é observado quanto o número de sintomas, onde apresentada ligeira queda nos pacientes com reinfeção.

Gráfico 9 - Distribuição dos sintomas e valor do Ct após a segunda dose de vacinação em indivíduos reinfetados para SARS-CoV-2 (n=10)



Fonte: A autora, 2022.

5 DISCUSSÃO

A pandemia da COVID-19 iniciou em março de 2020 no Brasil, quando foi decretado estado de emergência em boa parte do país. Nesse período somente profissionais da saúde e profissionais de atividades essenciais foram liberados pelo governo para exercer suas atividades. A pandemia da COVID-19 resultou em impactos significativos não apenas entre a população em geral, mas também entre os profissionais de saúde e pacientes (CHUTIYAMI et al., 2022).

No início da pandemia os dados de sequenciamento eram escassos devido o alto custo da técnica, capacitação de profissionais e padronização, portanto poucos laboratórios puderam auxiliar na publicação de dados genômicos nacionais. Porém ao decorrer da pandemia pesquisas científicas foram expandindo e com isso houve melhora na compilação de dados de sequenciamento garantindo o monitoramento das variantes em circulação.

Quanto as linhagens apresentadas nesse estudo, podemos observar a entrada da cepa B.1.1.33 no território do estado do Rio de Janeiro foi se expandindo pelas regiões Metropolitanas I e II de abril de 2020 à fevereiro de 2021. Esse achado se encontra compatível com os dados publicados no boletim epidemiológico semana 48, nº92 (2021), onde foi observado as linhagens B.1.1.33 e B.1.1.28 em circulação no Brasil a partir de fevereiro de 2020 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021).

Em 2021 observamos um aumento no surgimento de novas linhagens devido a mutações específicas que pode ocorrer por processos evolutivos e pressão seletiva do vírus. A variante Ômicron foi identificada pela primeira vez em novembro de 2021 na África do Sul e desde então apresentou uma séria de mutações necessitando de monitoramento assíduo das vigilâncias nos países. Nesse estudo conseguimos mapear o acúmulo de mutações desenvolvidas durante o processo evolutivo das principais linhagens VOC (Alpha, Zeta, Gamma, Delta e Ômicron), com isso observamos que a linhagem Ômicron teve um acúmulo de mutações num intervalo curto de tempo, comprovando a alta transmissibilidade.

Em nosso monitoramento observamos ampla distribuição territorial na cidade do Rio de Janeiro de 3 linhagens: Delta, Gamma e Ômicron, afetando principalmente a região metropolitana I. A reconstrução filogeográfica enfatiza a distribuição do vírus

de diversas regiões do estado, evidenciando ampla transmissão. Esse tipo de dado é fundamental para traçar estratégias de contenção da transmissão que torna necessário o fortalecimento da vigilância epigenômica.

Foi realizada uma análise dos valores de Ct apresentados pelos pacientes e os principais sintomas relatados de acordo com a linhagem apresentada. Vimos que os a média dos valores de Ct das linhagens nesse estudo foi menor que 25 e os pacientes que se infectaram com a linhagem Delta e Ômicron apresentaram mais sintomas que os infectados com as outras linhagens.

De acordo com os resultados obtidos quanto ao número de mutações e titulação de anticorpos apresentadas pelos pacientes infectados com a Ômicron, concluímos que a titulação apresentada não foi um fator de influência para o aparecimento ou não de mutações na variante Ômicron. Observamos que a presença de anticorpos circulantes não gerou proteção imunológica suficiente que impedisse a infecção pela linhagem Ômicron. A linhagem Ômicron pareceu ser mais eficiente em se disseminar em populações imunes em curto intervalo de tempo e por diversas regiões. As mutações acumuladas pela Ômicron reduziram a eficácia de soros neutralizantes nos indivíduos infectados e vacinados em 85% (ANDREANO et al., 2022). Além disso, o surgimento da variante Ômicron resultou em um aumento sem precedentes nos casos de COVID-19, incluindo aumento de infecções por indivíduos vacinados, apesar de exibir virulência reduzida (EVANS et al., 2022).

Profissionais de saúde que trabalham na linha de frente estão entre os grupos mais afetados (PORTO et al., 2021; BSOUL; LOOMER, 2022; CHUTIYAMI et al., 2022). Nossos dados mostram que os trabalhadores da área da saúde foram expostos mais precocemente a infecção por SARS-CoV-2 provavelmente pelo alto risco de exposição ao vírus no ambiente de trabalho. Essa demanda ficou explícita nos resultados apresentados, pois a maioria dos trabalhadores estava na linha de frente contra a COVID-19. No contexto profissional da saúde, englobamos enfermeiros, médicos, fisioterapeutas e assistentes, assim como biomédicos, biólogos, farmacêuticos e qualquer outro profissional que relatou ter atuado na linha de frente ao atendimento de pacientes com suspeita da doença ou atuou no diagnóstico laboratorial de amostras de SARS-CoV-2.

A exposição precoce da classe de alunos pode estar atrelada a alunos universitários que atuaram de forma voluntária nos hospitais e laboratórios de

combate a COVID-19. Ao decorrer da pesquisa não foi possível distinguir o grau de escolaridade da categoria aluno, porém pela idade mencionada acredita-se estarem vinculados ao ensino universitário já que em nosso estudo todos participantes são maiores de 18 anos. Além disso, a PPC e HUPE fazem parte do complexo UERJ que possui centros de formação de profissionais na área da saúde e, portanto, fornece estágios para os alunos matriculados atuarem no hospital universitário que pode justificar a exposição ao vírus. Nossos dados estão condizentes com o cenário de contaminação apresentada pelos profissionais no início da pandemia.

O impacto da COVID-19 nos trabalhadores da saúde tem sido relatado em todo o mundo (LAI et al., 2020; OSÓRIO et al., 2021). Assim como evidenciado em outros trabalhos, a classe predominante de trabalhadores da área de saúde é do sexo feminino com idade aproximada de 22 a 58 anos (ADRIELLE DOS SANTOS et al., 2021; LAI et al., 2020; OSÓRIO et al., 2021). Vários estudos realizados relatam que sofrimento emocional como ansiedade, estresse, depressão, insônia e sintomas somáticos geral da saúde estão associados ao sexo feminino (CHUTYAMI et al., 2022; OSÓRIO et al., 2021), devido ao trabalho excessivo, pressão da sociedade, fazeres domésticos e familiar (CHUTYAMI et al., 2022). No contexto de distúrbios relacionadas ao estresse apresentado durante o período pandêmico, foi analisado em nosso estudo somente perda do apetite e náusea que pode estar atrelado a ansiedade e depressão. O distúrbio da ansiedade de forma geral, foi mencionado em diversos estudos voltados para saúde mental de trabalhadores (CHUTYAMI et al., 2022; LAI et al., 2020). Em trabalho de Osório et al. (2021) constatou que trabalhadores de enfermagem apresentaram maiores índices de ansiedade, depressão e estresse quando comparado a outros profissionais da saúde (OSÓRIO et al., 2021). Apesar de pouco relatado dentro das categorias, não observamos alteração dentro dos sintomas gerados.

Além de distúrbios relacionados a saúde mental, também analisamos os sintomas característicos da doença. Apesar de febre ser um sintoma comum (EL-BADAWY et al., 2022) em pacientes com COVID-19, nossos dados mostraram que os pacientes apresentaram sintomas leves comparados a gripe como, tosse, cefaleia e dor no corpo.

Pacientes com comorbidades prévias e idade avançada têm risco aumentado de agravamento da doença resultando em aumento das taxas de síndrome do

desconforto respiratório agudo, falência de múltipla dos órgãos e morte quando em comparação com aqueles sem comorbidades (EL-BADAWY et al., 2022). Diabetes, hipertensão e obesidade são as comorbidades mais relatadas em indivíduos infectados por SARS-CoV-2 (ADRIELLE DOS SANTOS et al., 2021). Apesar da obesidade estar presente em todas as categorias, 18,3 % dos profissionais de outras atividades apresentaram sobrepeso quando comparado com os demais. Independentemente da categoria de ocupação, obesidade e hipertensão foram autorrelatados por pelo menos um paciente em cada categoria. Em estudo na China, 6% dos casos hipertensivos foram relacionados ao quadro de ansiedade devido a pandemia (EJAZ et al., 2020). A hipertensão está associada a fatores genéticos, comportamentais e habituais que podem contribuir ao agravamento da doença (EJAZ et al., 2020). A classificação do IMC foi definida por autodeclaração com base nos dados da ficha de atendimento a COVID-19, assim como o cálculo do IMC através dos dados de altura e peso relatado por cada paciente. Alto índice de IMC é um fator de risco de gravidade da COVID-19 (EJAZ et al., 2020).

Embora a maioria dos pacientes com COVID-19 desenvolva sintomas leves, cerca de 20% dos pacientes precisam de hospitalização e 5-8% desenvolvem sintomas ou necessitam de cuidados intensivos e internação na UTI (EJAZ et al., 2020). Pacientes com comorbidade preexistente precisam de assistência médica diferenciada para prevenir complicações e surgimento de outras comorbidades (EJAZ et al., 2020). Nesse estudo não tivemos acesso a informações de hospitalização e complicações referente a doença.

Desde o início da pandemia da COVID-19 em 2020 houve uma corrida contra o tempo para elaboração de vacina eficaz que pudesse combater o vírus e diminuir a transmissão em massa. Em dezembro de 2020 a OMS aprovou os primeiros imunizantes contra COVID-19 que foram distribuídos e fabricados em larga escala para todo mundo (BRASIL, 2021).

Considerando que o agravamento e óbito estão relacionados à características sociodemográficas e preexistência de comorbidades, foi estabelecido grupos prioritários para vacinação contra COVID-19 (BRASIL, 2022). Profissionais de saúde, idosos, indivíduos com elevado grau de vulnerabilidade social, indígenas e indivíduos com comorbidades foram priorizados devido pertencerem ao grupo de alto risco de exposição e/ou gravidade (BRASIL, 2022). Foi observado em nosso estudo, que os

profissionais da saúde foram os primeiros a serem imunizados contra COVID-19. A vacina foi distribuída entre os profissionais somente em janeiro de 2021, porém, um indivíduo teve a primeira imunização em agosto de 2020, provavelmente por fazer parte dos programas de pesquisa de imunização em fase pré-clínica. A importância da vacinação foi claramente discutida em todo mundo, porém não tivemos dados sobre a vacinação de 37% da população desse estudo. Os dados de vacinação foram coletados das fichas dos pacientes no momento da coleta do swab para qRT-PCR, portanto se o paciente realizou somente um teste em nossa unidade esse dado não foi atualizado, portanto, não podemos afirmar que os 145 pacientes não foram vacinados contra COVID-19.

Foram observados ao longo da pandemia diversos casos de infecção prolongada de indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 (YAHAV et al., 2020; ROMERO-ALVAREZ et al., 2021). Já foi documentado na literatura amostras com resultado detectado para SARS-CoV-2 por até 83 dias no trato respiratório superior, 59 dias no trato respiratório inferior, 126 dias em amostras de fezes e 60 dias em amostras de soro (CEVIK et al., 2021; MOHAN et al., 2021). No entanto, a replicação do vírus raramente foi detectada por mais de 20 dias (ENGELMANN et al., 2021; YAHAV et al., 2020). Além disso, é possível detectar o vírus em amostras de fezes após as amostras respiratórias se tornarem negativas (MOHAN et al., 2021), indicando disseminação prolongada do vírus no trato gastrointestinal durante o período da infecção (FALAH; KENARKOOHI, 2020).

No contexto geral dos resultados apresentados, os pacientes no início da infecção apresentaram mais sintomas que no final da infecção pelo SARS-CoV-2. Esse resultado era esperado já que ambos apresentaram valor de Ct menor no início da infecção, relacionado com uma maior carga viral. Resultado similar foi achado em estudo de Engelman et al. (2021) onde os valores mais baixos de Ct foram encontrados logo após o início dos sintomas, seguidos por um declínio na carga viral com o tempo após o início dos sintomas (ENGELMANN et al., 2021). Valores mais altos de Ct representam uma baixa carga de RNA viral e uma menor risco de transmissão de infecção (RABAAN et al., 2021). Os valores de Ct são fortemente associada à carga viral, infecciosidade e severidade da doença COVID-19 (ENGELMANN et al., 2021; RABAAN et al., 2021).

No geral, os diferentes resultados clínicos podem indicar um espectro mais diversificado de mecanismos biológicos à infecção prolongada. Entre os possíveis fatores relacionados ao hospedeiro, não foram encontradas evidências de diferenças clínicas associadas ao resultado uma vez que os resultados contemplam apenas dois pacientes, sendo necessário número maior de indivíduos para ampliar as análises relacionadas.

As sequências genômicas de pacientes com infecção prolongada permaneceu a mesma, não havendo distinção da linhagem apresentada no início da infecção, porém foi observado durante a evolução genômica, um pequeno acúmulo de mutações no paciente ID128 que foi configurada como um possível artefato e falha associada a montagem das sequências, devido à baixa cobertura no sequenciamento e Ct elevado (>33).

Quanto a imunidade adquirida, não é possível afirmar que está vinculada ao tipo de vacina recebida já que ao longo da pesquisa cada indivíduo se imunizou com vacinas de fabricante diferente, e durante o período tiveram poucas coletas para titulação de anticorpos para análises mais robustas. No entanto, podemos observar que o paciente ID28 apresentou baixos títulos imunológicos depois da vacina, porém o suficiente para garantir alguma imunização. A imunização adquirida pela vacinação pode ter auxiliado no desenvolvimento de sintomas leves semelhante ao da gripe durante a infecção. Em estudo conduzido por Almir da Silva et al. (2022), foi verificado que o título de anticorpos neutralizantes era mais baixo em indivíduos que tiveram a imunização adquirida pelo fabricante Sinovac (Coronovac) e se infectaram com a linhagem Ômicron, ou seja, indivíduos que tiveram a imunização adquirida por Sinovac e se infectaram com outras linhagens Gama e Delta tem mais cobertura imunológica (DA SILVA et al., 2022). Evidências sugerem que mais de 90% dos pacientes com COVID-19 soro convertem após a infecção natural e desenvolvem níveis variáveis de anticorpos neutralizantes e que os títulos de anticorpos diminuem ao longo do tempo (LAVEZZO et al., 2022). Esse fato foi observado com o paciente ID128, onde ocorreu pequena redução dos anticorpos neutralizantes (Lumit™). Assim como anticorpos neutralizantes, os anticorpos circulantes tendem a decair ao longo do tempo após uma infecção natural (KHOURY et al., 2021). Em estudo de Houry et al, (2021), foi descrita a decaída de título neutralizante em indivíduos vacinados durante os primeiros 3-4 meses após a vacinação (KHOURY et al., 2021).

O surgimento da variante Ômicron gerou uma série de preocupações sobre a eficácia das vacinas, além do grande número de mutações, a variante contém alterações específicas no domínio RBD que impacta a resistência à vacina (RAJPAL et al., 2022).

Observamos dentro dos nossos dados, indivíduos que apresentaram duas infecções ao longo desses dois anos de pandemia. A infecção primária foi predominante pela variante germinativa B.1.1.33, responsável pela primeira onda da COVID-19 em 2020, enquanto a segunda infecção foi dominada pela linhagem Ômicron (BA.1) responsável pelas principais infecções em janeiro de 2022. Mesmo após a vacinação (duas doses) a infecção pelo SARS-CoV-2 pode levar a avanços dos sintomas de infecção. Em nosso estudo os pacientes reinfectedos apresentaram mais sintomas e média de Ct mais baixa, sugerindo carga viral mais alta quando comparado a primeira infecção. Também foi observado tendência de queda no valor de Ct conforme o aumenta o intervalo de tempo da imunização, podemos supor que provavelmente devido à ausência de atividade neutralizante do vírus pós-infecção o título de anticorpos neutralizantes decaiu com o tempo, porém seriam necessários mais testes para confirmar esse dado.

Em estudo de Fan et al.(2022), verificou-se que a vacina AstraZeneca não desencadeou atividade neutralizante eficaz contra a variante Ômicron (FAN et al., 2022), segundo estudo para induzir forte reatividade neutralizante contra as variantes Delta e Ômicron é necessário esquema vacinal de mais de duas doses (FAN et al., 2022; LAVEZZO et al., 2022). Outro estudo, revelou que dose de reforço da vacina além de aumentar os níveis de anticorpos circulantes, também aumenta a amplitude de anticorpos neutralizantes (EVANS et al., 2022). Esses resultados confirmam que a vacinação é uma estratégia segura e eficaz para gerar imunidade contra SARS-CoV-2 (LAVEZZO et al., 2022).

Contudo, o tamanho da nossa amostra limitou as análises referente as doses de imunizantes.

O objetivo desse trabalho foi fornecer dados epidemiológicos e genéticos de pequena parte da população se concentrando principalmente em pacientes e funcionários atendidos no complexo UERJ – HUPE – PPC. Com base nisso, não podemos generalizar os dados aqui descritos, porém estes servem como base para futuras pesquisas que possam englobar o território brasileiro.

O papel da vigilância genômica em todo país é um passo significativo para entender a origem e a disseminação de novas linhagem. Assim sendo, a presente pesquisa traz contribuições pertinentes e científicas que possa agregar na tomada de decisão do sistema de saúde público nacional.

Nossas descobertas têm implicações potencialmente exploráveis para as decisões de saúde pública durante o gerenciamento da pandemia de SARS-CoV-2.

A pandemia causou mudanças em todo cenário mundial, mais precisamente no Brasil, percebemos que com as alianças formadas entre as instituições de ensino e pesquisa foi possível consolidar dados para estabelecer um sistema de vigilância capaz de prescrever medidas de contenção eficaz contra a transmissão do SARS-CoV-2.

Os profissionais da saúde foram expostos mais precocemente a linhagem B.1.1.33 (em circulação em abril de 2020) devido ao ambiente de trabalho, e a circulação somente de profissionais essencial no início da pandemia. Confirmamos, dentro dos nossos dados, que os profissionais de saúde foram os primeiros a serem imunizados pela vacina Sinovac (CoronaVac) como previsto pela campanha de vacinação dos grupos prioritários.

CONCLUSÃO

Nossos dados mostraram a expansão das principais linhagens Delta, Gamma e Ômicron na região metropolitana I no estado do Rio de Janeiro compatível com os dados apresentados pelo boletim epidemiológico do RJ.

A linhagem Ômicron apresentou comportamento diferente das linhagens anteriores, apresentando elevado acúmulo de mutações em curto intervalo de tempo, acreditamos que possa estar relacionada a alta transmissibilidade e baixa cobertura imunológica vacinal. Constatamos a redução de 49% de anticorpos circulantes em 51 dias após a imunização de duas doses vacinais com Sinovac, e 1% de anticorpos neutralizantes em 13 dias após a imunização de duas doses vacinais com AstraZeneca, portanto consideramos o reforço vacinal fundamental para a manutenção da imunização contra a COVI-19 principalmente com o surgimento de novas cepas.

Observamos dentro de nossa coorte o aparecimento da cepa B.1.1 no mesmo período da inserção da linhagem Ômicron, com baixo número de mutações, porém será necessário novas análises e acompanhamento genômico das variantes em circulação para distinguir sua classificação.

Dentro da nossa coorte observamos dois casos de infecção prolongada, ao avaliar o valor de Ct, observamos declínio após o início dos sintomas, esse dado já era esperado já que carga viral elevada é observada no início dos sintomas.

Os pacientes reinfectados com a linhagem Ômicron relataram mais sintomas e apresentaram valor de Ct mais baixo quando comparado com a primeira infecção (B.1.1.33). Também foi observado tendência de queda no valor de Ct conforme o aumenta o intervalo de tempo da imunização, podemos supor que provavelmente devido à ausência de atividade neutralizante do vírus pós-infecção, acreditamos que o título de anticorpos neutralizantes decai com o tempo, porém são necessários mais testes para confirmar esse dado.

REFERÊNCIAS

- ABDELRAHMAN, Z.; LI, M.; WANG, X. Comparative Review of SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, and Influenza A Respiratory Viruses. *Frontiers in Immunology*, v.11, e552909, 2020. DOI: 10.3389/fimmu.2020.552909
- ABRAHÃO, J. S. et al. Detection of SARS-CoV-2 RNA on public surfaces in a densely populated urban area of Brazil: A potential tool for monitoring the circulation of infected patients. *The Science of the Total Environment*, v. 766, e142645, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142645
- ACTER, T. 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*, n. 730, e138996, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138996
- ADE, C. et al. Analysis of cycle threshold values in SARS-CoV-2-PCR in a long-term study. *Journal of Clinical Virology*, v. 138, e104791, 2021. DOI:10.1016/j.jcv.2021.104791.
- ADRIELLE DOS SANTOS, L. et al. Recurrent COVID-19 including evidence of reinfection and enhanced severity in thirty Brazilian healthcare workers. *Journal of Infection*, v. 82, n. 3, p. 399-406, 2021.
- AHMED, W. et al. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: A proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Science of The Total Environment*, v. 728, e138764, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.138764 0048-9697
- ANDERSON, E. L. et al. Consideration of the Aerosol Transmission for COVID-19 and Public Health. *Risk Analysis*, v. 40, n. 5, p. 902–907, 2020.
- ANDERSON, R. M. et al. The SARS-CoV-2 pandemic: remaining uncertainties in our understanding of the epidemiology and transmission dynamics of the virus, and challenges to be overcome. *Interface Focus*, v. 11, n. 6, p.1-23, 2021.
- ANDREANO, E. et al. Anatomy of Omicron BA.1 and BA.2 neutralizing antibodies in COVID-19 mRNA vaccinees. *Nature Communications*, v. 13, n. 1, e3375, 2022. DOI: 10.1038/s41467-022-31115-8.
- AQUINO, E. M. L. et al. Medidas de distanciamento social no controle da pandemia de COVID-19: potenciais impactos e desafios no Brasil. *Ciência e Saúde Coletiva*, v. 25, n. 1, p. 2423–2446, 2020.
- AWADASSEID, A. et al. SARS-CoV-2 variants evolved during the early stage of the pandemic and effects of mutations on adaptation in Wuhan populations. *International journal of biological sciences*, v. 17, n. 1, p. 97–106, 2021.

BEIG PARIKHANI, A. et al. The Inclusive Review on SARS-CoV-2 Biology, Epidemiology, Diagnosis, and Potential Management Options. *Current Microbiology*, v. 78, n. 4, p. 1099–1114, 2021.

BEZERRA, A. C. V. et al. Fatores associados ao comportamento da população durante o isolamento social na pandemia de COVID-19. *Ciência e Saúde Coletiva*, v. 25, n.1, p. 2411–2421, 2020.

BISCAYART, C. et al. The next big threat to global health? 2019 novel coronavirus (2019-nCoV): What advice can we give to travellers? - Interim recommendations January 2020, from the Latin-American society for Travel Medicine (SLAMVI). *Travel medicine and infectious disease*, v. 33, e101567, 2020. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101567.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO DOS CASOS DE COVID-19 NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO 2020-2021 [do] Sistema Único de Saúde; Secretaria de Saúde do Governo de Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2022.

BOLINA, A. F.; BOMFIM, E.; LOPES-JÚNIOR, L. C. Frontline Nursing Care: The COVID-19 Pandemic and the Brazilian Health System. *SAGE open nursing*, v. 6, p.1-6, 2020. DOI: 10.1177/2377960820963771.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Plano Nacional de operacionalização da vacinação contra a Covid-19*. 13. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico, n.92. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/covid-19/2021/boletim_epidemiologico_covid_92_10dez21.pdf/view>. Acesso em: 27 jun. 2022.

BSOUL, E. A.; LOOMER, P. M. COVID-19 vaccination experience among United States dental professionals and students: Safety, confidence, concerns, and side effects. *PLOS ONE*, v. 17, n. 2, e0264323, 2022. DOI:10.1371/journal.pone.0264323.

CASSÃO, V. et al. Unsupervised analysis of COVID-19 pandemic evolution in brazilian states. *Procedia Computer Science*, v. 196, p. 655–662, 2021.

CEVIK, M. et al. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Microbe*, v. 2, n. 1, p. 13-22, 2021.

CHEN, Y.; LIU, Q.; GUO, D. Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology*, v. 92, n. 4, p. 418-423, 2020.

CHUTIYAMI, M. et al. COVID-19 Pandemic and Overall Mental Health of Healthcare Professionals Globally: A Meta-Review of Systematic Reviews. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, 2022. DOI: 10.3389/fpsy.2021.804525

CRODA, J. et al. COVID-19 in Brazil: advantages of a socialized unified health

system and preparation to contain cases. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 53, e20200167, 2020. DOI:10.1590/0037-8682-0167-2020

CROKIDAKIS, N. COVID-19 spreading in Rio de Janeiro, Brazil: Do the policies of social isolation really work? *Chaos, Solitons and Fractals*, v.136, e109930, 2020. DOI: 10.1016/j.chaos.2020.109930

DA SILVA, A. R. et al. Generation of neutralizing antibodies against Omicron, Gamma and Delta SARS-CoV-2 variants following CoronaVac vaccination. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 64, e19, 2022. DOI:10.1590/S1678-9946202264019

DANTAS, G. et al. The impact of COVID-19 partial lockdown on the air quality of the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 729, e139085, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139085

DATAFOLHA. Opinião sobre a pandemia do Coronavírus: comportamento da população e medidas do governo São Paulo. *Portal Datafolha*, 2020. Disponível em: <http://media.folha.uol.com.br/datafolha/2020/04/06/6c9855d692b869f13c5d83c421568342hb.pdf>. Acesso em: 14 jun 2021.

DE LIMA, L. D.; PEREIRA, A. M. M.; MACHADO, C. V. Crise, condicionantes e desafios de coordenação do Estado federativo brasileiro no contexto da COVID-19. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 36, n. 7, p.1-6, 2020.

DE OLIVEIRA, W. K. et al. How Brazil can hold back COVID-19. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, v. 29, n. 2, e2020044, 2020. DOI: 10.5123/s1679-49742020000200023.

DE SIMONE, S. et al. The Association of Broadband Internet Access and Telemedicine Utilization in rural Western Tennessee: an observational study. *BMC Health Services Research*, v. 21, e765, 2021. DOI:10.1186/s12913-022-08235-4

DEB, P. et al. A review of epidemiology, clinical features and disease course, transmission dynamics, and neutralization efficacy of SARS-CoV-2 variants. *The Egyptian Journal of Bronchology*, v. 15, n. 1, p.1-14, 2021.

DONIDA, B.; DA COSTA, C. A.; SCHERER, J. N. Making the COVID-19 Pandemic a Driver for Digital Health: Brazilian Strategies. *JMIR Public Health and Surveillance*, v. 7, n. 6, e28643, 2021. DOI: 10.2196/28643

EJAZ, H. et al. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *Journal of Infection and Public Health*, v. 13, n.12, p.1833-1839, 2020.

EL-BADAWY, O. et al. COVID-19 Infection in Patients with Comorbidities: Clinical and Immunological Insight. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, v. 28, p.1-11, 2022. DOI: 10.1177/10760296221107889.

ELLIS, P. et al. Decoding Covid-19 with the SARS-CoV-2 Genome. *Current Genetic Medicine Reports*, v. 9, n. 1, p. 1–12, 2021.

ENGELMANN, I. et al. Preanalytical Issues and Cycle Threshold Values in SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Testing: Should Test Results Include These? *ACS Omega*, v.6, n.10, p. 6528–6536, 2021.

EVANGELISTA, H. et al. Modeling the initial phase of SARS-CoV-2 deposition in the respiratory tract mimicked by the ¹¹C radionuclide. *PloS one*, v. 16, n. 1, e0245019. 2021a. DOI: 10.1371/journal.pone.0245019.

EVANGELISTA, H. et al. Combining science and social engagement against Covid-19 in a Brazilian Slum. *medRxiv*. 2021b. DOI: 10.1101/2021.01.06.21249243

EVANGELISTA, H. et al. How social engagement against Covid-19 in a Brazilian Slum helped mitigate rising statistics. *medRxiv*, 2022. DOI: 10.31080/ASMI.2022.05.1130

EVANS, J. P. et al. Neutralization of SARS-CoV-2 Omicron sub-lineages BA.1, BA.1.1, and BA.2. *Cell Host Microbe*, v.30, n.8, p.1093-1102, 2022.

FALAH, S.; KENARKOOHI, A. COVID-19 reinfection: prolonged shedding or true reinfection? *New Microbes and New Infections*, v. 38, e100812, 2020. DOI: 10.1016/j.nmni.2020.100812

FAN, Y. et al. SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 7, n. 141, p.1-11, 2022.

FISHER, M.; SANG-HUN, C. How South Korea Flattened the Curve. *The New York Times*, 2020. Disponível em: <<https://www.nytimes.com/2020/03/23/world/asia/coronavirus-south-korea-flatten-curve.html>>. Acesso em: 27 jun. 2022.

GALLASCH, C. H. et al. Prevenção relacionada à exposição ocupacional do profissional de saúde no cenário de COVID-19. *Revista Enfermagem Uerj*.v. 28, n. 28, p.1-6, 2020.

GIOVANETTI, M. et al. Evolution patterns of SARS-CoV-2: Snapshot on its genome variants. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v. 538, p. 88-91, 2021. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.10.102

GREENSTONE, M.; NIGAM, V. Does Social Distancing Matter? *University of Chicago, Becker Friedman Institute for Economics Working Paper*, v.26, p.1-20, 2020. DOI:10.2139/ssrn.3561244

HALAJI, M. et al. Epidemiology of COVID-19: An updated review. *Journal of Research in Medical Sciences : The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, v. 26, n.82, p.1-10, 2021.

HALPERN, B. et al. Proposal of an obesity classification based on weight history: an official document by the Brazilian Society of Endocrinology and Metabolism (SBEM) and the Brazilian Society for the Study of Obesity and Metabolic Syndrome (ABESO). *Archives of Endocrinology and Metabolism*, v.66, n.2, p.139-151, 2022.

HARZHEIM, E. et al. Ações federais para apoio e fortalecimento local no combate ao COVID-19: a Atenção Primária à Saúde (APS) no assento do condutor. *Ciência Saúde Coletiva*, v. 25, n. 1, p. 2493–2497, 2020.

HIROSE, R. et al. Differences in environmental stability among SARS-CoV-2 variants of concern: Omicron has higher stability. *BioRxiv*, 2022. DOI: 10.1101/2022.01.18.476607

HOANG, D. T. et al. UFBoot2: Improving the Ultrafast Bootstrap Approximation. *Molecular Biology and Evolution*, v. 35, n. 2, p. 518–522, 2018.

HORTA, B. L. et al. COVID-19 and outpatient care: a nationwide household survey. *Cadernos de Saúde Pública*, v.38, n.4, e0019412, 2022. DOI: 10.1590/0102-311X00194121

HU, B. et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nature Reviews Microbiology*, v. 19, n. 3, p. 141–154, 2020.

HUANG, M. et al. Atlas of currently-available human neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 and escape by Omicron sub-variants BA.1/BA.1.1/BA.2/BA.3. *Immunity*, v.55, n.8, p.1501-1514, 2022.

HUYNH, T. L. D. Does culture matter social distancing under the COVID-19 pandemic? *Safety Science*, 2020.

JAKHMOLA, S. et al. Mutational analysis of structural protei of SARS-Co nsV-2. *Heliyon*, v. 7, n. 3, e06572, 2021. DOI:10.1016/j.heliyon.2021. e06572

JARVIS, M. C. Aerosol Transmission of SARS-CoV-2: Physical Principles and Implications. *Frontiers in Public Health*, v. 8, e590041, 2020. DOI: 10.3389/fpubh.2020.590041

JOGALEKAR, M. P.; VEERABATHINI, A.; GANGADARAN, P. SARS-CoV-2 variants: A double-edged sword? *Experimental Biology and Medicine*, v. 246, n. 15, p. 1721–1726, 2021.

KALYAANAMOORTHY, S. et al. Modelfinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nature Methods*, v. 14, n. 6, p.587-589, 2017.

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution*, v. 30, n. 4, p. 772–780, 2013.

KHOURY, D. S. et al. Neutralizing antibody levels are highly predictive of immune protection from symptomatic SARS-CoV-2 infection. *Nature Medicine*, v. 27, n. 7, p. 1205–1211, 2021.

KONINGS, F. et al. SARS-CoV-2 Variants of Interest and Concern naming scheme conducive for global discourse. *Nature Microbiology*, v. 6, n. 7, p. 821–823, 2021.

KUMAR, M. et al. A chronicle of SARS-CoV-2: Part-I - Epidemiology, diagnosis, prognosis, transmission and treatment. *The Science of the Total Environment*, v. 734, e139278, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139278.

KUMAR, S. U. et al. A review of novel coronavirus disease (COVID-19): based on genomic structure, phylogeny, current shreds of evidence, candidate vaccines, and drug repurposing. *3 Biotech*, v. 11, n. 4, e198, 2021. DOI: 10.1007/s13205-021-02749-0.

KWON, K. S. et al. Evidence of Long-Distance Droplet Transmission of SARS-CoV-2 by Direct Air Flow in a Restaurant in Korea. *Journal of Korean Medical Science*, v. 35, n. 46, e415, 2020. DOI:10.3346/jkms.2020.35.e415

LAI, J. et al. Factors Associated With Mental Health Outcomes Among Health Care Workers Exposed to Coronavirus Disease 2019. *JAMA Network Open*, v. 3, n. 3, p. 203976–203976, 2020.

LAMARCA, A. P. et al. Genomic surveillance of SARS-CoV-2 tracks early interstate transmission of P.1 lineage and diversification within P.2 clade in Brazil. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, v. 15, n. 10, e0009835, 2021. DOI: 10.1371/journal.pntd.0009835

LAN, J. et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature*, v. 581, n. 7807, p. 215–220, 2020.

LAVEZZO, E. et al. Neutralising reactivity against SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants by vaccination and infection history. *Genome Medicine*, v. 14, n. 1, p. 1–16, 2022.

LEÃO, M. L. P. et al. Health impact assessment of air pollutants during the COVID-19 pandemic in a Brazilian metropolis. *Environmental Science and Pollution Research International*, v.28, n.31, p.41843–41850, 2021.

LIU, P. et al. Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? *PLoS Pathogens*, v.16, n.5, e1008421, 2020. DOI: 10.1371/journal.ppat.1008421

LOTFI, M.; HAMBLIN, M. R.; REZAEI, N. COVID-19: Transmission, prevention, and potential therapeutic opportunities. *Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry*, v. 508, p.254-266, 2020. DOI: 10.1016/j.cca.2020.05.044

MACHHI, J. et al. The Natural History, Pathobiology, and Clinical Manifestations of SARS-CoV-2 Infections. *Journal of Neuroimmune Pharmacology*, v.12, p.359-386, 2020. DOI:10.1007/s11481-020-09944-5

MARQUITTI, F. M. D. et al. Brazil in the face of new SARS-CoV-2 variants: emergencies and challenges in public health. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 24, p. e210022, 2021. DOI:10.1590/1980-549720210022.

MINA, M. J. et al. To Interpret the SARS-CoV-2 Test, Consider the Cycle Threshold Value. *Clinical Infectious Diseases*, v.71, n.16, 2252–2254, 2020.

MINH, B. Q. et al. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Molecular Biology and Evolution*, v. 37, n. 5, p. 1530-1534, 2020.

MOHAMMAD, T. et al. Genomic Variations in the Structural Proteins of SARS-CoV-2 and Their Deleterious Impact on Pathogenesis: A Comparative Genomics Approach. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, e765039, 2021. DOI:10.3389/fcimb.2021.765039.

MOHAN, S. V. et al. SARS-CoV-2 in environmental perspective: Occurrence, persistence, surveillance, inactivation and challenges. *Chemical Engineering Journal*, v. 405, p. 126893, 2021. DOI:10.1016/j.cej.2020.126893

MOHAPATRA, S. et al. The novel SARS-CoV-2 pandemic: Possible environmental transmission, detection, persistence and fate during wastewater and water treatment. *Science of The Total Environment*, v. 765, e142746, 2021. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.142746

MOREIRA, F. R. R. et al. Epidemiological dynamics of SARS-CoV-2 VOC Gamma in Rio de Janeiro, Brazil. *Virus Evolution*, v. 7, n. 2, p.1-12, 2021.

MORENO, T. et al. Tracing surface and airborne SARS-CoV-2 RNA inside public buses and subway trains. *Environment International*, v. 147, e106326, 2021. DOI:10.1016/j.envint.2020.106326

MURPHY, K. et al. COVID-19 Conspiracies, Trust in Authorities, and Duty to Comply with Social Distancing Restrictions. *International Criminology* 2022, p. 1–15, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s43576-021-00042-x>>. Acesso em: 19 jan. 2022.

NAVECA, F. G. et al. COVID-19 in Amazonas, Brazil, was driven by the persistence of endemic lineages and P.1 emergence. *Nature Medicine*, v.27, n.7, p.1230–1238, 2021.

NEIVA, M. B. et al. Brazil: the emerging epicenter of COVID-19 pandemic. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 53, e20200550, 2020. DOI: 10.1590/0037-8682-0550-2020

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANAS DA SAÚDE. OMS anuncia nomenclaturas simples e fáceis de pronunciar para variantes de interesse e de preocupação do SARS-CoV-2 - OPAS/OMS. *Portal Organização Pan-Americana da Saúde*. 2021. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/1-6-2021-oms-anuncia-nomenclaturas-simples-e-faceis-pronunciar-para-variantes-interesse-e>>. Acesso em: 17 maio. 2022.

ORGANIZATION WORLD HEALTH. WHO-Convened Global Study of Origins of SARS-CoV-2: China Part. *Infectious Diseases Immunity*, v. 1, n. 3, p. 125–132, 2021.

ORGANIZATION WORLD HEALTH. COVID-19 Weekly epidemiological update. *Organization World Health*, v.73, 2022a. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---6-january-2022>>. Acesso em: 6 jul. 2022.

ORGANIZATION WORLD HEALTH. COVID-19 Weekly epidemiological update. *Organization World Health*, v 98, 2022b. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---29-june-2022>>. Acesso em: 6 jul. 2022.

OSÓRIO, F. L. et al. Risk and Protective Factors for the Mental Health of Brazilian Healthcare Workers in the Frontline of COVID-19 Pandemic. *Frontiers in Psychiatry*, v. 12, e662742, 2021. DOI:10.3389/fpsy.2021.662742.

PORTO, L. C. et al. Clinical and laboratory characteristics in outpatient diagnosis of COVID-19 in healthcare professionals in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Clinical Pathology*, v.75, n.3, p.185-192, 2021.

POTTER, C. W. A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology*, v. 91, n. 4, p. 572–579, 2001.

RABAAN, A. A. et al. Viral Dynamics and Real-Time RT-PCR Ct Values Correlation with Disease Severity in COVID-19. *Diagnostics* 2021, Vol. 11, Page 1091, v. 11, n. 6, p.1091, 2021.

RAHIMI, A.; MIRZAZADEH, A.; TAVAKOLPOUR, S. Genetics and genomics of SARS-CoV-2: A review of the literature with the special focus on genetic diversity and SARS-CoV-2 genome detection. *Genomics*, v. 113, n. 1, p. 1221–1232, 2021.

RAJPAL, V. R. et al. A comprehensive account of SARS-CoV-2 genome structure, incurred mutations, lineages and COVID-19 vaccination program. *Future Virology*, 2022. DOI: 10.2217/fvl-2021-0277

RAMBAUT, A. et al. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evolution*, v. 2, n. 1, p.1-7, 2016.

RAUF, A. et al. COVID-19 pandemic: Epidemiology, etiology, conventional and non-conventional therapies *International Journal of Environmental Research and Public Health*, v.17, n.21, p.1-35, 2020.

REPÚBLICA FEDERATIVA DO BRASIL. LEI No 13.982, DE 2 DE ABRIL DE 2020. . 2020.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO dos casos de COVID-19 no Estado do Rio de Janeiro 2020-2021. 2021. Disponível em: <https://painel.saude.rj.gov.br/arquivos/Boletim_2020_2021_2611.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2022.

ROCHA, R. G.; ASSAD, L. G. *Ações e estratégias gerenciais de enfermagem no enfrentamento da pandemia da Covid-19 (SARS-CoV-2)*. Curitiba: CRV, 2021.

RODRIGUEZ-MORALES, A. J. et al. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 35, e101613, 2020. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101613

RODRÍGUEZ-MORALES, A. J. et al. Going global – Travel and the 2019 novel coronavirus. *Travel Medicine and Infectious Disease*, v. 33, e101578, 2020. DOI: 10.1016/j.tmaid.2020.101578.

ROMERO-ALVAREZ, D. et al. Cycle Threshold Values in the Context of Multiple RT-PCR Testing for SARS-CoV-2. *Risk management and healthcare policy*, v. 14, p. 1311–1317, 2021. DOI: 10.2147/RMHP.S282962

ROSA, M. F. F. et al. Direct from the COVID-19 crisis: research and innovation sparks in Brazil. *Health Research Policy and Systems*, v. 19, n. 1, p. 1–7, 2021.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *Journal of autoimmunity*, v. 109, e102433, 2020. DOI: 10.1016/j.jaut.2020.102433.

SATARKER, S.; NAMPOOTHIRI, M. Structural Proteins in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2. *Archives of Medical Research*, v. 51, n. 6, p. 482-491, 2020.

SHADMI, E. et al. Health equity and COVID-19: Global perspectives. *International Journal for Equity in Health*, v. 19, n. 1, p. 1–16, 2020.

SHEIKHZADEH, E. et al. Diagnostic techniques for COVID-19 and new developments. *Talanta*, v. 220, 2020. DOI: 10.1016/j.talanta.2020.121392

SHOAIB, M. H. et al. A Journey From SARS-CoV-2 to COVID-19 and Beyond: A Comprehensive Insight of Epidemiology, Diagnosis, Pathogenesis, and Overview of the Progress into Its Therapeutic Management. *Frontiers in Pharmacology*, v.12, e576448, 2021. DOI:10.3389/fphar.2021.576448

SICILIANO, B. et al. Increased ozone levels during the COVID-19 lockdown: Analysis for the city of Rio de Janeiro, Brazil. *Science of The Total Environment*, v. 737, e139765, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.139765.

SINGH, J. et al. Evolutionary trajectory of SARS-CoV-2 and emerging variants. *Virology Journal*, v. 18, n. 1, p. 1–21, 2021.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA E MEDICINA

LABORATORIAL. Métodos Laboratoriais para Diagnóstico da Infecção pelo SARS-CoV-2. *Portal da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica e Medicina Laboratorial*. 2020. Disponível em: <<http://www.sbpc.org.br/wp-content/uploads/2020/04/MetodosLaboratoriaisDiagnosticoSARS-CoV-2.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2022.

SOFI, M. S.; HAMID, A.; BHAT, S. U. SARS-CoV-2: A critical review of its history, pathogenesis, transmission, diagnosis and treatment. *Biosafety and Health*, v. 2, n. 4, p. 217-225, 2020.

SUCHARD, M. A. et al. Bayesian phylogenetic and phylodynamic data integration using BEAST 1.10. *Virus Evolution*, v. 4, n. 1, p.1-5, 2018. DOI:10.1093/ve/vey016

SUDBRACK S. et al. Prevalência de vírus respiratórios em lactentes com bronquiolite aguda e sibilância recorrente em uma emergência pediátrica no sul do Brasil. *Sci Med*. 2007;17(3):124-9.

TAN, W. et al. A Novel Coronavirus Genome Identified in a Cluster of Pneumonia Cases — Wuhan, China 2019–2020. *China CDC Weekly*, v. 2, n. 4, p. 61–62, 2020.

TROYANO-HERNÁEZ, P.; REINOSA, R.; HOLGUÍN, Á. Evolution of SARS-CoV-2 Envelope, Membrane, Nucleocapsid, and Spike Structural Proteins from the Beginning of the Pandemic to September 2020: A Global and Regional Approach by Epidemiological Week. *Viruses*, v. 13, n. 243, p1-16, 2021.

UNIVERSIDADE DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO. Uerj desenvolve aparelho individual portátil para mapear carga do novo coronavírus nos diversos ambientes - Coronavírus COVID-19. *Portal UERJ COVID-19, Coronavírus*. 2020. Disponível em: <<https://www.coronavirus.uerj.br/uerj-desenvolve-aparelho-individual-portatil-para-mapear-carga-do-novo-coronavirus-nos-diversos-ambientes/>>. Acesso em: 29 jun. 2022.

VAN DOREMALEN, N. et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *New England Journal of Medicine*, v. 382, n. 16, p. 1564–1567, 2020.

VOYSEY, M. et al. Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *The Lancet*, v. 397, n.10269, p. 99-111, 2021.

WALLS, A. C. et al. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, v. 181, n.2, p. 281- 292, 2020.

WANG, S. et al. The COVID-19 pandemic and the potential treatment of the novel coronavirus SARS-CoV-2. *American Journal of Translational Research*, v. 13, n. 3, p. 871-881, 2021.

WERNECK, G. L. et al. The incidence and geographical spread of SARS-CoV-2 in Rio de Janeiro, Brazil based on RT-PCR test results. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 54, e07792020, 2021. DOI: 10.1590/0037-8682-0779-2020

WERNECK, G. L. A pandemia de COVID-19: desafios na avaliação do impacto de problemas complexos e multidimensionais na saúde de populações. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 38, n. 4, p.1-3, 2022.

WERNECK, G. L.; CARVALHO, M. S. A pandemia de COVID-19 no Brasil: crônica de uma crise sanitária anunciada. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 36, n. 5, e00068820, 2020. DOI: 10.1590/0102-311X00068820

ORGANIZATION WORLD HEALTH. WHO-Convened Global Study of Origins of SARS-CoV-2: China Part. *Infectious Diseases Immunity*, v. 1, n. 3, p. 125–132, 2021.

ORGANIZATION WORLD HEALTH. COVID-19 Weekly epidemiological update. *Organization World Health*, v.73, 2022a. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---6-january-2022>>. Acesso em: 6 jul. 2022.

ORGANIZATION WORLD HEALTH. COVID-19 Weekly epidemiological update. *Organization World Health*, v 98, 2022b. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---29-june-2022>>. Acesso em: 6 jul. 2022.

YAHAV, D. et al. Definitions for COVID-19 reinfection, relapse and PCR re-positivity. *Clinical microbiology and infection*, v. 27, n. 3, p.315-318,2021.

YAN, R. et al. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science*, v. 6, n. 8, p. 1998–2016, 2020.

YUAN, X. et al. Current and Perspective Diagnostic Techniques for COVID-19. *ACS Infectious Diseases*, v. 367, n. 6485, p. 1444–1448, 2020.

ZANDI, M.; SOLTANI, S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 and its structural proteins. *Journal of Cellular Physiology*, v. 237, n. 1, p. 9, 2022.

APÊNDICE – Aprovação do CEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Perfil clínico epidemiológico e laboratorial da pandemia de COVID-19 dos pacientes atendidos na UERJ e avaliação da resposta vacinal para o SARS-CoV-2.

Pesquisador: Luis Cristóvão de Moraes Sobrino Pôrto

Área Temática: Genética Humana:

(Haverá armazenamento de material biológico ou dados genéticos humanos no exterior e no País, quando de forma conveniada com instituições estrangeiras ou em instituições comerciais;);

Versão: 5

CAAE: 30135320.0.0000.5259

Instituição Proponente: Hospital Universitário Pedro Ernesto/UERJ

Patrocinador Principal: Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ
FUN CARLOS CHAGAS F. DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DO RIO DE JANEIRO - FAPERJ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.207.217

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1812878_E2.pdf, de 14/01/2022).

INTRODUÇÃO

O decreto de pandemia do COVID-19 tem implicações diretas para a prevenção e avanço da doença nos grandes centros urbanos. A experiência da China (1), foi utilizada para limitação da transmissão e na orientação das equipes de saúde para o tratamento e diagnóstico. O COVID-19 no Brasil foi diagnosticado pela primeira vez em pacientes oriundos da Europa e desde 12 de março, São Paulo e Rio de Janeiro tiveram da definição de transmissão comunitária. No Rio de Janeiro, houve imediata ação para controle da mobilidade social e a Secretaria Estadual de Saúde tem coordenado as ações para mobilização dos recursos de saúde do Estado para contenção da transmissão e adequação dos serviços de saúde para atendimento a população, difusão dos dados diários de casos Após contágio pelo COVID-19, a evolução clínica do paciente varia nos diferentes

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

ANEXO A - Ficha de atendimento de agendados COVID-19

ATENDIMENTO DE AGENDADOS COVID-19 (PCR e Teste Rápido)		Data de Atendimento ____/____/2021		Piquet Carneiro PERMUTUÁRIA			
INFORMAÇÕES							
ID:	Hora: ____:____	CPF: _____-____	CNS:				
Nome:					Sexo: () Fem () Mas		
Dt Nasc: ____/____/____		Nome da Mãe:					
Endereço:					CEP:		
Bairro:			Município:		UF		
Celular: ()		Telefone: ()		Email:			
Raça/Cor: () Branca () Parda () Preta () Amarela () Indígena () Não Declarado _____							
Profissão:		Religião:		Aluno UERJ: () Sim () Não		Curso:	
Profissional UERJ: () Sim () Não		Matrícula UERJ:		Unidade:			
MOTIVO REALIZAÇÃO TESTAGEM							
<input type="checkbox"/> Sintomático () Verificação Cura () Contato com caso confirmado () Sistema Vigilância/Biossegurança <input type="checkbox"/> Profissional de atividade essencial () Viagem <input type="checkbox"/> Precirúrgico ou preprocedimento de saúde Qual: _____							
Contato com caso: () suspeito () confirmado				Data Contato: ____/____/____			
SINAIS E SINTOMAS APRESENTADOS				Dt. Início: ____/____/____			
<input type="checkbox"/> Febre ____°C () Prostração (fraqueza, abatimento) () Tosse () Espirro; () Dor de garganta <input type="checkbox"/> Congestão nasal ("nariz entupido") () Dificuldade de respirar () Congestão conjuntival (olhos vermelhos) <input type="checkbox"/> Dor no corpo () Anosmia/Hiposmia (perda do olfato / diminuição) () Palpitação (aceleração do coração) <input type="checkbox"/> Rash cutâneo (manchas vermelhas na pele) () Cefaleia (dor de cabeça) () Dor abdominal () Coriza <input type="checkbox"/> Náusea/Vômitos () Ansiedade () Dor articular () Diarreia () Calafrio () Otagia (dor no ouvido) <input type="checkbox"/> Perda do apetite () Dor torácica () Dor nos olhos () Ageusia/Hipogusia (perda do paladar) <input type="checkbox"/> Cansaço; Outra: _____							
COMORBIDADES: (responda a todos os itens 1 – Sim; 2 – Não; 9- Ignorado)							
<input type="checkbox"/> Hipertensão; () Rinite; () Doença arterial coronariana; () Cardiopatia congênita; () Depressão <input type="checkbox"/> Esquizofrenia; () Hipotireoidismo; () Hipertireoidismo; () Lúpus; () Artrite reumatóide; () Diabetes <input type="checkbox"/> Obesidade; () Doença renal crônica; () Infecção por HIV; () Neoplasia maligna - câncer <input type="checkbox"/> Quimioterapia; () Imunodeficiência - diminuição da imunidade; () Uso de imunobiológico <input type="checkbox"/> Sinusite Crônica; () Tuberculose; () Tabagista Maços/Dia ____; () Bronquite crônica; () Asma <input type="checkbox"/> Doença pulmonar obstrutiva crônica - enfisema; () Alergia tópica de pele <input type="checkbox"/> Alergia alimentar, qual(is)? _____ <input type="checkbox"/> Alergia a Medicamentos, qual(is)? _____ Outra(s): _____							
Altura: ____ m Peso: ____ kg Temp: ____°C Oximetria: ____%					TCLE () Sim () Não		
Já teve COVID-19 anteriormente? () Não () Sim Data: mês/ano - ____/____							
Confirmado por: () Sintomas () RT-PCR (Swab) () TESTE Rápido () Sorologia							
Vacinado Covid-19? () Sim () Não				Qual vacina? _____			
Data da 1ª dose: ____/____/____				Data da 2ª dose: ____/____/____			
Encaminhado para realizar:		() RT – PCR (Swab)		Resultado Teste Rápido		IgM () Reagente () Não Reagente	
		() Teste Rápido				IgG () Reagente () Não Reagente	
() Coleta de sangue							
MV no pedido		Requisição GAL		Nome responsável			

RESEARCH ARTICLE

Modeling the initial phase of SARS-CoV-2 deposition in the respiratory tract mimicked by the ^{11}C radionuclide

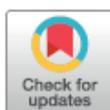
Heitor Evangelista^{1*}, César Amaral^{1,2*}, Luís Cristóvão Porto^{3†}, Sérgio J. Gonçalves Junior^{1*}, Eduardo Delfino Sodré^{1*}, Juliana Nogueira^{1*}, Angela M. G. dos Santos^{3†}, Marcio Cataldo^{4*}, Daniel Junger^{1†}

1 LARAMQ – Laboratory of Radioecology and Global Changes, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **2** LDD – Laboratório de Diagnósticos por DNA, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **3** HLA – Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **4** Draxos Consultoria e Gestão Ambiental Ltda., Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil

* These authors contributed equally to this work.

† These authors also contributed equally to this work.

* sjmoncalves@gmail.com



OPEN ACCESS

Citation: Evangelista H, Amaral C, Porto LC, Gonçalves Junior SJ, Delfino Sodré E, Nogueira J, et al. (2021) Modeling the initial phase of SARS-CoV-2 deposition in the respiratory tract mimicked by the ^{11}C radionuclide. *PLoS ONE* 16(1): e0245019. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245019>

Editor: Simone Lolli, Italian National Research Council (CNR), ITALY

Received: August 14, 2020

Accepted: December 20, 2020

Published: January 14, 2021

Peer Review History: PLOS recognizes the benefits of transparency in the peer review process; therefore, we enable the publication of all of the content of peer review and author responses alongside final, published articles. The editorial history of this article is available here: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245019>

Copyright: © 2021 Evangelista et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are with in the manuscript and its [Supporting information files](#).

Abstract

The knowledge on the deposition and retention of the viral particle of SARS-CoV-2 in the respiratory tract during the very initial intake from the ambient air is of prime importance to understand the infectious process and COVID-19 initial symptoms. We propose to use a modified version of a widely tested lung deposition model developed by the ICRP, in the context of the ICRP Publication 66, that provides deposition patterns of microparticles in different lung compartments. In the model, we mimicked the "environmental decay" of the virus, determined by controlled experiments related to normal speeches, by the radionuclide ^{11}C that presents comparable decay rates. Our results confirm clinical observations on the high virus retentions observed in the extrathoracic region and the lesser fraction on the alveolar section (in the order of 5), which may shed light on physiopathology of clinical events as well on the minimal inoculum required to establish infection.

Introduction

Respiratory infections are relevant clinical conditions due to their diffusion, and potentially severe consequences, such as presently observed for the SARS-CoV spread all around the world. Declared as a "global pandemic" by the World Health Organization on March 11th, 2020, the new coronavirus disease 2019 (COVID-19) represents one of the most significant public health challenges in recent decades [1]. Respiratory infections caused by viruses, mainly due to their high capacity of infection and spread, are a major cause of illness and death from a worldwide perspective. In 2003, with the global alert caused by the SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome), the coronaviruses joined this group, triggered by a newly identified coronavirus (SARS-CoV). Since then, several other pathogens associated with acute respiratory

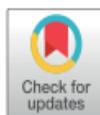
ANEXO C – Página de rosto Coautoria publicação 2

PLOS NEGLECTED TROPICAL DISEASES

RESEARCH ARTICLE

Genomic surveillance of SARS-CoV-2 tracks early interstate transmission of P.1 lineage and diversification within P.2 clade in Brazil

Alessandra P. Lamarca¹, Luiz G. P. de Almeida¹, Ronaldo da Silva Francisco, Jr.¹, Lucymara Fassarella Agnez Lima², Kátia Castanho Scortecci², Vinicius Pietta Perez³, Otavio J. Brustolini¹, Eduardo Sérgio Soares Sousa⁴, Danielle Angst Secco⁵, Angela Maria Guimarães Santos⁵, George Rego Albuquerque⁶, Ana Paula Melo Mariano⁶, Bianca Mendes Maciel⁶, Alexandra L. Gerber¹, Ana Paula de C. Guimarães¹, Paulo Ricardo Nascimento⁷, Francisco Paulo Freire Neto⁷, Sandra Rocha Gadelha⁸, Luís Cristóvão Porto⁵, Eloiza Helena Campana⁴, Selma Maria Bezerra Jeronimo^{7,8}, Ana Tereza R. Vasconcelos^{1*}



1 Laboratório de Bioinformática, Laboratório Nacional de Computação Científica, Petrópolis, Brazil, **2** Laboratório de Biologia Molecular e Genômica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil, **3** Laboratório de Endemias, Núcleo de Medicina Tropical, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, **4** Laboratório de Biologia Molecular, Centro de Ciências Médicas, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brazil, **5** Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil, **6** Laboratório de Farmacogenômica e Epidemiologia Molecular, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, Brazil, **7** Instituto de Medicina Tropical do Rio Grande do Norte, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil, **8** Departamento de Bioquímica, Centro de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, Brazil

* atrv@incc.br

OPEN ACCESS

Citation: Lamarca AP, de Almeida LGP, Francisco RdS, Jr., Lima LFA, Scortecci KC, Perez VP, et al. (2021) Genomic surveillance of SARS-CoV-2 tracks early interstate transmission of P.1 lineage and diversification within P.2 clade in Brazil. *PLoS Negl Trop Dis* 15(10): e0009835. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0009835>

Editor: Colleen B. Jonsson, University of Tennessee Health Science Center College of Medicine Memphis, UNITED STATES

Received: March 11, 2021

Accepted: September 23, 2021

Published: October 13, 2021

Copyright: © 2021 Lamarca et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All assembled genomes are available in the GISAID database after registration. Accession IDs are indicated in [S1 Table](#). RAW files were deposited in the NCBI database under the BioProject ID PRJNA752057.

Funding: This work was developed in the frameworks of Corona-ômica-RJ (FAPERJ = E-26/210.179/2020 <http://www.faperj.br/>) and Rede Corona-ômica BR MCTI/FINEP (FINEP =

Abstract

The sharp increase of COVID-19 cases in late 2020 has made Brazil the new epicenter of the ongoing SARS-CoV-2 pandemic. The novel viral lineages P.1 (Variant of Concern Gamma) and P.2, respectively identified in the Brazilian states of Amazonas and Rio de Janeiro, have been associated with potentially higher transmission rates and antibody neutralization escape. In this study, we performed the whole-genome sequencing of 185 samples isolated from three out of the five Brazilian regions, including Amazonas (North region), Rio Grande do Norte, Paraíba and Bahia (Northeast region), and Rio de Janeiro (Southeast region) in order to monitor the spread of SARS-CoV-2 lineages in Brazil in the first months of 2021. Here, we showed a widespread dispersal of P.1 and P.2 across Brazilian regions and, except for Amazonas, P.2 was the predominant lineage identified in the sampled states. We estimated the origin of P.2 lineage to have happened in February, 2020 and identified that it has differentiated into new clades. Interstate transmission of P.2 was detected since March, but reached its peak in December, 2020 and January, 2021. Transmission of P.1 was also high in December and its origin was inferred to have happened in August 2020. We also confirmed the presence of lineage P.7, recently described in the southernmost region of Brazil, to have spread across the Northeastern states. P.1, P.2 and P.7 are descended from the ancient B.1.1.28 strain, which co-dominated the first phase of the pandemic in Brazil with the B.1.1.33 strain. We also identified the occurrence of a new lineage descending from



Short Communication

The incidence and geographical spread of SARS-CoV-2 in Rio de Janeiro, Brazil based on RT-PCR test results

Guilherme Loureiro Werneck^{[1],[2]}, Luís Cristóvão Porto^[3], Alexandre Sena^[4],
 Orlando da Costa Ferreira Junior^[5], Andrea Cony Cavalcanti^[6],
 Ângela Maria Guimarães Santos^[3], Danielle Angst Secco^[3], Marcio Silva^[4],
 Diana Mariani^[5], Alexandre Chieppe^[7], Amilcar Tanuri^[5] and the RTPCR-RJ Working Group*

- [1]. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Departamento de Epidemiologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [2]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Estudos em Saúde Coletiva, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [3]. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia Roberto Alcântara Gomes, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [4]. Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Matemática e Estatística, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [5]. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [6]. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
 [7]. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro, Subsecretaria de Vigilância em Saúde, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Abstract

Introduction: Rio de Janeiro has hardly experienced coronavirus disease. **Methods:** Here, 87,442 reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) test results for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) were reported among Rio de Janeiro residents (March to September 2020). **Results:** Overall, RT-PCR positivity of 44.6% decreased over time towards 20%. Positivity was greater among males (OR=1.22; 95%CI:1.19-1.26); Black (OR=1.10; 95%CI:1.02-1.19), Brown (OR=1.16; 95%CI:1.10-1.22), and indigenous people (OR=2.11; 95%CI:0.88-5.03) compared to Whites and increased with age; with epidemic spread from the capital to inland regions. **Conclusions:** SARS-CoV-2 keeps spreading in Rio de Janeiro, and reopening of activities may fuel the epidemic.

Keywords: SARS-CoV-2. COVID-19. Epidemiology. Surveillance. Brazil.

In Brazil, epidemiological data regarding the new coronavirus disease (COVID-19) pandemic are gathered from different sources and collated by the Surveillance Department of the Brazilian Ministry of Health¹. By October 26, 2020, Brazil ranked third in the number of COVID-19 cases (5,409,854) and second in the number of deaths (157,397) worldwide².

*RTPCR-RJ Working Group: (1) Secretaria Estadual de Saúde do Rio de Janeiro: Verônica G. Nogueira, Leandro M. Souza, Luiz Cláudio P. Ribeiro, Federico F. Nasci; (2) Universidade Federal do Rio de Janeiro: Terezinha Marta P. P. Castineiras, Rafael M. Galliez, Cássia Cristina A. Gonçalves, Débora S. Faffe, Isabela C. Leitão, Helena D'Anunciação de Oliveira, Kissylla H. França, Bianca O. Silva, Anna Carla P. Castineiras, Mariana F. Campos, Guilherme S. Lira, Victor A. Ota, Romina C. Ferreira, Isabela C. Labarba, Mayla G. M. Melo, Henrique C. Rodrigues, Atila D. Rossi, Carolina M. Voloch, Mariane T. Menezes, Filipe R. R. Moreira; (3) Universidade do Estado do Rio de Janeiro: Scarlathe B. Costa, Cristiano V. Lima, Jeane S. Nogueira, Sandra P. C. Vilas Boas, Vinicius M. Porto, Vania Maria A. Souza, Raphaela S. Menezes, Anna Paula V. Silva, Marcelle V. Castro, Paulo Ricardo V. B. Carvalho, Juliana P. Rodrigues Motta, Hanna S. Condolo.

Corresponding author: Dr. Guilherme Loureiro Werneck.
 e-mail: gwerneck@iesc.ufrj.br
<https://orcid.org/0000-0003-1169-1436>
 Received 9 November 2020
 Accepted 12 January 2021

The state of Rio de Janeiro has hardly experienced the COVID-19 pandemic, and the community transmission of the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) has been declared since March 13, 2020³. By October 26, 2020, the state of Rio de Janeiro had 302,746 confirmed cases of COVID-19, ranking second in mortality rate (117 deaths per 100,000 population) and first in case-fatality rate (6.7%) in Brazil^{1,2}.

The epidemiological situation in the state of Rio de Janeiro is of major concern essentially because it encompasses the city of Rio de Janeiro. Rio de Janeiro is the second largest city in Brazil, with more than 6.7 million people, 22% of whom live in densely inhabited slums under poor sanitary and household conditions⁴. The city of Rio de Janeiro was one of the first cities in Brazil to confirm COVID-19 cases. Today, for the city, the mortality rate of COVID-19 (177 deaths per 100,000 population), is higher than that of any other country, globally, and is the highest among Brazilian cities with more than 100,000 population¹. The case-fatality rate is 10.2%, 3.5-fold higher than the country figure, suggesting that underreporting of cases might be substantial¹. Therefore, understanding the spread of SARS-CoV-2 infection in the state of Rio de Janeiro and its capital might be useful to plan the next steps in the pandemic response not only locally but also in the country.

ANEXO E – Página de rosto Coautoria publicação 4

medRxiv preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2021.01.06.21249243>; this version posted January 9, 2021. The copyright holder for this preprint (which was not certified by peer review) is the author/funder, who has granted medRxiv a license to display the preprint in perpetuity. It is made available under a [CC-BY-NC-ND 4.0 International license](#) .

**Combining science and social engagement against
Covid-19 in a Brazilian Slum**

**Heitor Evangelista^{1*}, Sérgio J. Gonçalves Junior¹, Eduardo Delfino Sodré¹,
Juliana Nogueira¹, Rodrigo G. Barbosa¹, Newton Magalhães¹, Angela M.G.
dos Santos², Ricardo H. M. Godoi³, Cesar Amaral¹, Marcio Cataldo G. da
Silva¹, Daniel A. Junger de Oliveira¹, Luís Cristóvão Porto²**

¹LARAMG - Laboratory of Radioecology and Global Changes/DBB/IBRAG. Uerj, Pavilhão Haroldo L. Cunha/DBB/IBRAG. Rua São Francisco Xavier 524. Maracanã, Rio de Janeiro State University, Rio de Janeiro, 20550-013. Brazil.

²Policlínica Piquet Carneiro/Laboratório de Histocompatibilidade e Criopreservação, Rio de Janeiro State University (Uerj). Av. Mal. Rondon, 381 - São Francisco Xavier, Rio de Janeiro - RJ, 20950-003. Brazil.

³Environmental Engineering Department, Federal University of Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

* To whom correspondence should be addressed: evangelista.uerj@gmail.com (Heitor Evangelista)

ABSTRACT. Vaccine is the only way out towards an effective action against Covid-19. Nevertheless, for many underdeveloped countries, ordinary people's access will occur late within or even after the second disease wave. In this context, strategies implemented by social communities allied to the scientific knowledge may attenuate the rapid spread of cases and allow access of treatments at health care services to the population. Here, we present results of coordinate actions combining the aerosol SARS-Cov-2 virus monitoring and sanitization at Santa Marta slum in Rio de Janeiro city, where profits were significantly achieved.