

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IGG ANTI PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO E
IGM ANTI PROTEÍNAS DE SARS-COV-2 APÓS 6 MESES DO DIAGNÓSTICO DE
COVID-19 ENTRE PROFISSIONAIS DE SAÚDE DE HOSPITAL TERCIÁRIO E
FATORES ASSOCIADOS**

Fernando Schmidt Fernandes

Porto Alegre

2021

CIP - Catalogação na Publicação

Fernandes, Fernando Schmidt
PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IGG ANTI PROTEÍNA DO
NUCLEOCAPSÍDEO E IGM ANTI PROTEÍNA S DE SARS-COV-2
APÓS 6 MESES DO DIAGNÓSTICO DE COVID-19 ENTRE
PROFISSIONAIS DE SAÚDE DE HOSPITAL TERCIÁRIO E FATORES
ASSOCIADOS / Fernando Schmidt Fernandes. -- 2021.
79 f.
Orientador: Odirlei André Monticielo.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa de
Pós-Graduação em Medicina: Ciências Médicas, Porto
Alegre, BR-RS, 2021.

1. Teste Sorológico para COVID-19. 2. COVID-19. 3.
profissionais de saúde. I. Monticielo, Odirlei André,
orient. II. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIÊNCIAS MÉDICAS

**PREVALÊNCIA DE ANTICORPOS IGG ANTI PROTEÍNA DO NUCLEOCAPSÍDEO E
IGM ANTI PROTEÍNAS DE SARS-COV-2 APÓS 6 MESES DO DIAGNÓSTICO DE
COVID-19 ENTRE PROFISSIONAIS DE SAÚDE DE HOSPITAL TERCIÁRIO E
FATORES ASSOCIADOS**

Fernando Schmidt Fernandes

Orientador: Prof. Dr. Odirlei André Monticielo

Dissertação apresentada como requisito parcial para
obtenção de título de Mestre em Medicina: Ciências
Médicas, da Universidade Federal do Rio Grande do
Sul, Programa de Pós-Graduação em Medicina:
Ciências Médicas.

Porto Alegre

2021

AGRADECIMENTOS

Aos demais autores pelo auxílio desprendido no planejamento e execução deste trabalho, especialmente às estimadas amigas e colegas Fernanda Damian, Sheila Toniasso e Maria Carlota Brum.

À minha companheira, Bruna Barnard, por todo o apoio recebido.

À minha amiga, colega de residência e de mestrado, Luiza Rossi.

À minha família, especialmente minha mãe, Dayse Schmidt, minha irmã, Thais Schmidt Fernandes, e meu pai, Decoclides Fernandes (*in memoriam*), pelo apoio em minha formação acadêmica.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Odirlei Monticielo, por sua orientação neste projeto.

A todos os colegas que atuam e atuaram ombro a ombro no enfrentamento à pandemia por COVID-19.

Quem estará nas trincheiras ao teu lado?

- E isso importa?

- Mais do que a própria guerra.

Ernest Hemingway

RESUMO

Título: Prevalência de anticorpos IgG anti proteína do nucleocapsídeo e IgM anti proteína S de SARS-CoV-2 após 6 meses do diagnóstico de COVID-19 entre profissionais de saúde de hospital terciário e fatores associados.

Base teórica: diversos testes sorológicos voltados para a detecção de anticorpos contra SARS-CoV-2 estão disponíveis comercialmente e seu uso tem sido descrito principalmente na avaliação da taxa cumulativa de infecção. Prevalência maior do que 90% é reportada para IgG positivo em períodos tardios após o episódio de COVID-19, mas prevalência menor é observada para IgM. A capacidade de detecção de anticorpos pelos diferentes testes sorológicos disponíveis parece ser heterogênea, especialmente em períodos tardios após a doença. Profissionais de saúde constituem uma população em risco para infecção por SARS-CoV-2 e seu adoecimento impacta diretamente a capacidade de resposta dos sistemas de saúde. **Objetivo:** determinar a prevalência de teste sorológico para COVID-19 positivo entre profissionais de saúde diagnosticados com COVID-19 há 6 meses ou mais e avaliar fatores clínicos, demográficos e ocupacionais associados. **Métodos:** estudo transversal conduzido em hospital terciário brasileiro. Foram incluídos profissionais que tenham realizado teste sorológico 6 meses ou mais após o diagnóstico de COVID-19 definido por teste RT-PCR (*Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*) positivo. Características clínicas e resultado dos testes para detecção de IgG anti nucleocapsídeo e de IgM anti proteína S por imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) foram obtidos em prontuário médico. Variáveis categóricas foram descritas em frequência e porcentagem e contínuas em mediana e percentis 25% e 75%. Foram calculadas as prevalências e IC 95% de testes IgG e IgM positivos. Regressão de Poisson com variância robusta foi utilizada para avaliar fatores associados a teste positivo por meio do cálculo de razão de prevalência (RP) e IC 95%. Foi adotado um nível de significância de 5%. **Resultados:** Foram avaliados 339 indivíduos, com mediana de idade de 41 (34-49) anos, sendo 72,9% mulheres. Apenas 8,6% necessitaram hospitalização por COVID-19. A maior parte dos indivíduos exercia atividade assistencial (73,7%) e atuava em local de trabalho não dedicado a pacientes com COVID-19 (56,2%). O tempo entre RT-PCR positivo e a realização do teste sorológico foi de 30 (28,2-32,8) semanas. A prevalência de IgG positivo foi de 38,6% (IC 95%: 33,2-44) e de IgM foi de 37,7% (IC 95%: 32,6-42,8), com baixa concordância entre os testes ($Kappa=0,28$). Prevalência de IgG positivo foi maior em indivíduos com mais idade (RP para aumento de cada ano de vida: 1,03; 1,01-1,04) e entre aqueles com história de hospitalização por COVID-19 (RP: 2,02; 1,49-2,75). Prevalência de IgM positivo foi maior em indivíduos com maior índice de massa corporal (IMC) (RP para cada aumento de 1 Kg/m² de IMC: 1,03; 1,00-1,06). Quanto maior o tempo entre o diagnóstico de COVID-19 e a realização do teste sorológico, menor a prevalência de IgG (RP para aumento de cada semana após o diagnóstico: 0,94; 0,91-0,98) e de IgM (RP para aumento cada semana após o diagnóstico: 0,95; 0,91-0,99) positivos. **Conclusão:** a baixa

soroprevalência de IgG anti nucleocapsídeo avaliada por imunoensaio de quimioluminescência de micropartículas resultou em subestimação da taxa cumulativa de infecção. Além disso, IgM antiproteína S como marcador de infecção recente pode levar a conclusões equivocadas, pois está presente por longos períodos após a infecção por COVID-19.

Palavras chave: Teste sorológico para COVID-19, COVID-19, profissionais de saúde.

ABSTRACT

Title: Prevalence of IgG anti nucleocapsid and IgM anti protein S of SARS-CoV-2 after 6 months of COVID-19 diagnosis among tertiary hospital healthcare workers and associated factors.

Theoretical basis: Several serological tests aimed at detecting antibodies against SARS-CoV-2 are commercially available and their use has been mainly described in the assessment of the cumulative rate of infection. A prevalence greater than 90% is reported for positive IgG in later periods after the COVID-19 episode, but a lower prevalence is observed for IgM. The ability to detect antibodies by the different serological tests available seems to be heterogeneous, especially in late periods after the disease. Health professionals constitute a population at risk for SARS-CoV-2 infection and their illness directly impacts the response capacity of health systems. **Objective:** to determine the prevalence of positive COVID-19 serological test 6 months or more after the diagnosis of COVID-19 among health professionals and to assess associated clinical, demographic and occupational factors. **Methods:** cross-sectional study conducted in a Brazilian tertiary hospital. Professionals who had performed serological testing 6 months or more after the diagnosis of COVID-19, defined by a positive RT-PCR (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) test, were included. Clinical characteristics and test results for anti nucleocapsid IgG and anti protein S IgM evaluated by chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) were retrieved from medical records. Categorical variables were described as frequency and percentage and continuous variables as median and 25% and 75% percentiles. Prevalence and 95% CI of positive IgG and IgM tests were calculated. Poisson regression with robust variance was used to assess factors associated with positive testing by calculating the prevalence ratio (PR) and 95% CI. A significance level of 5% was adopted. **Results:** A total of 339 individuals were evaluated, with a median age of 41 (34-49) years, 72.9% women. Only 8.6% required hospitalization for COVID-19. Most individuals worked in assistencial care (73.7%) and in a work area not dedicated to patients with COVID-19 (56.2%). The period of time between positive RT-PCR and serological testing was 30 weeks (28.2-32.8). The prevalence of positive IgG was 38.6% (95% CI: 33.2-44) and of positive IgM was 37.7% (95% CI: 32.6-42.8), with low agreement between the tests (Kappa=0.28). Prevalence of positive IgG was higher in older individuals (PR for increase in each year of life: 1.03; 1.01-1.04) and in those with a history of hospitalization for COVID-19 (PR: 2.02; 1.49-2.75). Prevalence of positive IgM was higher in individuals with higher body mass index (BMI) (PR for each increase of 1 Kg/m² in BMI: 1.03; 1.00-1.06). The longer the time between diagnosis and serological testing, the lower the prevalence of positive IgG (PR for each week after diagnosis: 0.94; 0.91-0.98) and positive IgM (PR for each week after diagnosis: 0.95; 0.91-0.99). **Conclusion:** the low seroprevalence of IgG anti nucleocapsid assessed by microparticle chemiluminescence immunoassay leads to

underestimation of the cumulative rate of infection. Furthermore, IgM anti protein S as a marker of recent infection may lead to wrong conclusions, considering the presence of positive IgM after a long period of COVID-19 infection.

Key Words: COVID-19 Serological Testing, COVID-19, Healthcare workers.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Fluxograma da seleção de estudos.....	16
Figura 2 – Estrutura do SARS-CoV-2.....	17
Figura 3 – Marco conceitual do estudo.....	33
Figura 4 – Figura 1 do artigo. <i>Diagrama dos indivíduos incluídos e excluídos</i>	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Estratégia de busca para base de dados PubMed (MEDLINE).....	14
Tabela 2 – Estudos avaliando testes sorológicos contra SARS-CoV-2 em período prolongado após a doença.....	25
Tabela 3 – Tabela 1 do artigo. <i>Clinical and demographic characteristics</i>	67
Tabela 4 – Tabela 2 do artigo. <i>Occupation and work area</i>	68
Tabela 5 – Tabela 3 do artigo. <i>Prevalence of positive serology according to vaccination status</i>	68
Tabela 6 – Tabela 4 do artigo. <i>Factors associated with positive serological testing</i>	68

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMI: *body mass index*

CD: *cluster of differentiation*; cluster de diferenciação, grupamento de diferenciação

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CEP: Comitê de Ética em Pesquisa

CI: *confidence interval*

CLIA: *chemiluminescent immunoassay*; imunoensaio quimioluminescente

CMIA: *chemiluminescent microparticle immunoassay*; imunoensaio quimioluminescente por micropartículas

COPD: *chronic obstructive pulmonary disease*

CoV: coronavírus

COVID-19: Infecção pelo novo coronavírus SARS-CoV-2

DP: desvio padrão

DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica

E: proteína do envelope viral

ECA: enzima conversora de angiotensina

ECLIA: *electrochemiluminescence immunoassay*; imunoensaio eletroquimioluminescente

ELISA: *enzyme linked immunosorbent assay*; ensaio de imunoabsorção enzimática

EPI: equipamento pessoal de proteção

IC: intervalo de confiança

ICU: *intensive care unit*

IgG: imunoglobulina G

IgM: imunoglobulina M

IIQ: Intervalo interquartil

IMC: índice de massa corporal

IQR: *interquartile range*

M: proteína de membrana

MERS: *Middle East respiratory syndrome*

N: proteína do nucleocapsídeo

NA: não se aplica

NE: não especificado

NR: não reportado

OMS: Organização Mundial da Saúde

PR: *prevalence ratio*

RBD: *receptor binding domain*

RLU: *relative light unit*

RNA: *ribonucleic acid*

RP: *razão de prevalência*

RT-PCR: *Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction*

S: *glicoproteína spike*

SARS: *Severe Acute Respiratory Syndrome*

SARS-CoV-2: *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus - 2*

S/C: *sinal/cutoff*

TNF: *tumor necrosis factor*

USA: *United States of America*

UTI: *unidade de tratamento intensivo*

SUMÁRIO

1. Introdução.....	13
2. Revisão da literatura	13
2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações.....	13
2.2 Vírus SARS-CoV-2.....	16
2.3 Transmissão da COVID-19.....	17
2.4 Manifestações clínicas da COVID-19.....	18
2.5 Diagnóstico da COVID-19.....	19
2.6 Resposta imune à COVID-19.....	20
2.7 Testes sorológicos para COVID-19.....	22
2.8 Testes sorológicos aplicados em período prolongado após diagnóstico de COVID-19.....	23
2.9 Profissionais de saúde e a COVID-19.....	31
2.10 Hospital de Clínicas de Porto Alegre	32
3. MARCO CONCEITUAL.....	33
4. JUSTIFICATIVA.....	34
5. OBJETIVO.....	35
5.1 OBJETIVO PRIMÁRIO.....	35
5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS.....	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	36
7. ARTIGO.....	58
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	74
9. PERSPECTIVAS FUTURAS.....	76

1. INTRODUÇÃO

O mundo enfrenta atualmente o terceiro grande problema de saúde pública causado por um coronavírus. Identificado na China em final de 2019, o betacoronavírus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus – 2*) é o agente etiológico da doença chamada COVID-19 (*coronavirus disease 2019*) (1). A evolução do conhecimento sobre o vírus permitiu o desenvolvimento de tecnologias voltadas para seu enfrentamento, como exames laboratoriais, vacinas e terapias.

Diversos testes sorológicos são comercializados para detecção de anticorpos contra o SARS-CoV-2, havendo variabilidade de metodologias e de alvos antigênicos. Esses testes têm sido utilizados no monitoramento da taxa cumulativa de infecção por meio de estudos de soroprevalência (2-4), como ferramenta auxiliar no processo diagnóstico de COVID-19 (5-11), principalmente após os primeiros dias de sintomas (12-16), e na avaliação de risco para reinfecção (17, 157).

Quando aplicados em períodos tardios após a recuperação da doença, os testes sorológicos têm demonstrado altas taxas de detecção de IgG contra diferentes antígenos do SARS-CoV-2, o mesmo não ocorrendo para IgM (13, 18-21). No entanto, os testes comercializados têm capacidade de detecção heterogênea. O teste por imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (*chemiluminescent microparticle immunoassay*, CMIA) disponibilizado pela empresa Abbott e voltado para detecção de IgG anti nucleocapsídeo, por exemplo, demonstrou desempenho inferior a outros testes quando aplicados meses após o diagnóstico de COVID-19 (22-24).

Profissionais de saúde estão em risco para contaminação por SARS-CoV-2 (25-26) e a utilização de testes sorológicos nessa população tem sido descrita em estudos de soroprevalência (27-29), rastreamento de indivíduos potencialmente infectados (30-31), avaliação de fatores de risco para contágio (17, 28, 32-33) e identificação de surtos (34).

Os sistemas de saúde necessitam traçar estratégias de enfrentamento para a situação atual o mais acertadas possível dentro de orçamentos muitas vezes limitados. Entender a confiabilidade da informação trazida por determinado teste sorológico quando aplicado em diferentes contextos clínicos e epidemiológicos pode contribuir para a tomada de decisão.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Estratégias para localizar e selecionar as informações

A revisão da literatura foi realizada com intuito de identificar estudos que reportassem o uso de testes sorológicos para SARS-CoV-2, com foco em IgG e IgM. Inicialmente não foi realizada restrição quanto ao momento de emprego do teste com relação ao início da doença, porém, dado o abundante volume de trabalhos identificados, a estratégia foi ajustada com inclusão de termos que delimitassem o período de interesse, qual seja, igual ou maior a 6 meses após o episódio de COVID-19. A estratégia de busca, bem como os termos utilizados, encontram-se descritos na tabela 1, na qual consta a estratégia construída para a base de dados PubMed (MEDLINE).

Foram excluídos estudos de revisão; relatos de caso; séries de caso; estudos de população pediátrica; estudos de população altamente selecionada (como, por exemplo, exclusivamente pacientes oncológicos); estudos com menos de 30 indivíduos; estudos que aplicaram apenas teste rápido para a avaliação de anticorpos contra SARS-CoV-2; estudos nos quais a descrição do teste sorológico não foi especificada; estudos que avaliaram exclusivamente testes laboratoriais não comercializados; estudos nos quais não foi possível identificar o tempo entre o episódio de COVID-19 ou, alternativamente, de teste sorológico positivo prévio, e a realização de teste sorológico em análise. O fluxograma 1 apresenta o número de artigos avaliados, incluídos e excluídos, assim como as respectivas justificativas para exclusão.

Tabela 1. Estratégia de busca para base de dados PubMed (MEDLINE).

Termo geral	Definidor	Tradução	Mesh	Termos Livres
Teste sorológico (1)	Soro prevalência	Seroprevalence	seroepidemiologic studies [mh]	Seroprevalence [tw]
	Anticorpos	Antibodies	Antibodies [mh]	Antibodies [tw] IgG [tw] Immunoglobulin G [tw] IgM [tw] Immunoglobulin M [tw]
	Imunidade humoral	humoral immunity	Immunity, Humoral [mh]	Immunity, Humoral [tw]
	sorologia	serology	serology [mh]	serology [tw]
	Teste	serologic test	serologic test [mh]	serologic test [tw]

	sorológico		COVID-19 Testing [mh] COVID-19 Serological Testing [mh]	COVID-19 Testing [tw] COVID-19 Serological Testing [tw] anti SARS-CoV-2 [tw]
	Imunoensaio por quimioluminescência	chemiluminescence immunoassay	Immunoassay [mh]	Immunoassay [tw] chemiluminescence immunoassay [tw]
	Quimioluminescência	Chemiluminescence		Chemiluminescence [tw]
	Abbott Architect	Abbott Architect		Abbott architect [tw]
	Abbott	Abbott		Abbott [tw]
SARS-CoV-2/ COVID-19 (2)	SARS-CoV-2/ COVID-19	SARS-CoV-2/ COVID-19	SARS-CoV-2 [mh] COVID-19 [mh]	SARS-CoV-2 [tw] COVID-19 [tw] new coronavirus 2019 [tw]
Convalescência (3)	Convalescence	Convalescence	Convalescence [mh]	Convalescence [tw]
			Longitudinal Studies [mh]	six months [tw] late [tw] prolonged [tw] longitudinal [tw] seroreversion [tw]

Resultados da busca para a base de dados PubMed (MEDLINE), atualizado em 07/11/2021:

(1) 1.662.351

(2) 172.538

(3) 1.121.114

(1) + (2): 16.862

(1) + (2) + (3): 1.370 estudos

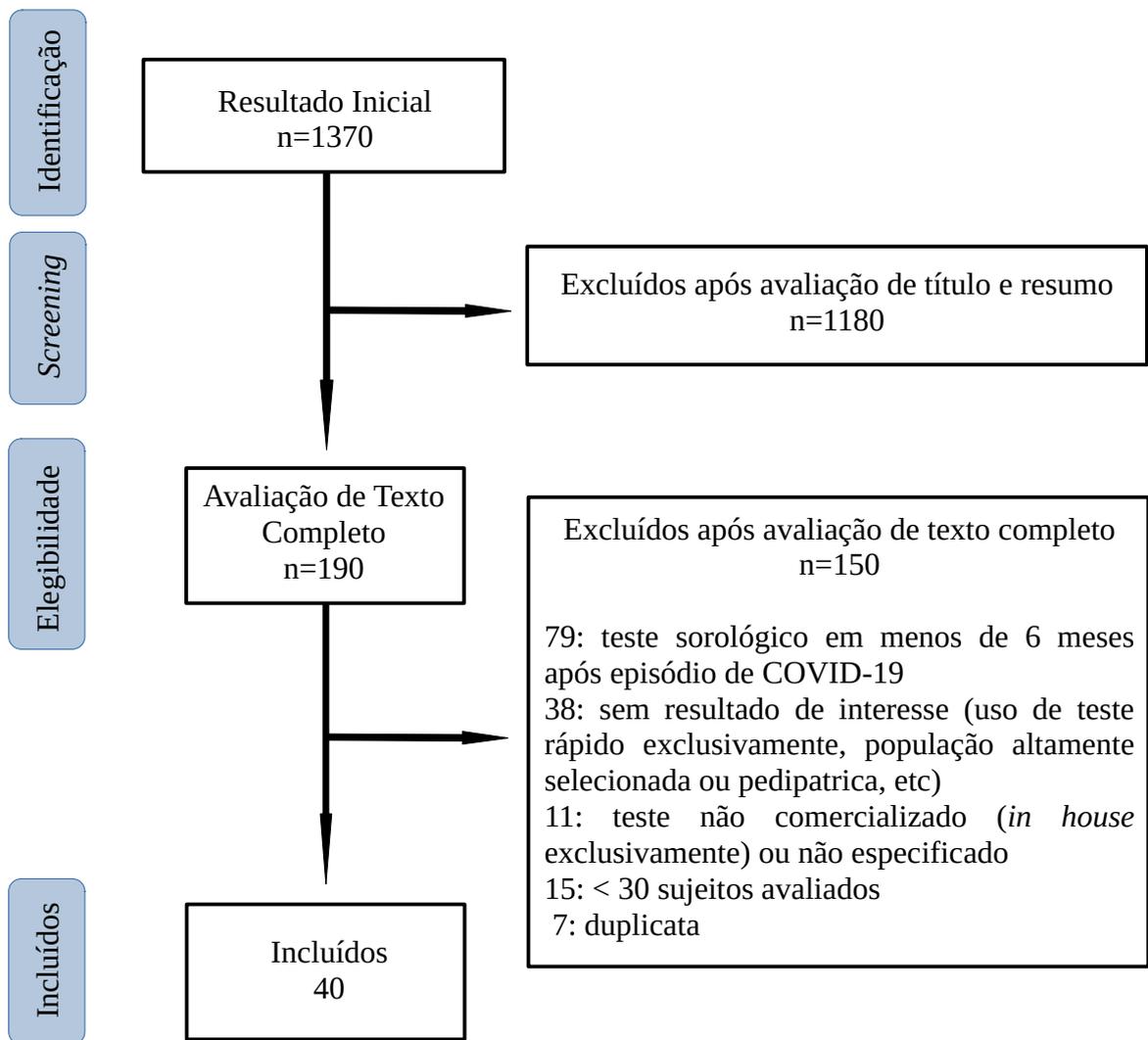


Figura 1. Fluxograma da seleção de estudos

2.2 Vírus SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é terceiro coronavírus com grande impacto global. Antes dele, o vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome – SARS*) e o vírus da

Síndrome Respiratória do Oriente Médio (*Middle East respiratory syndrome* – MERS) já haviam demonstrado o potencial negativo desses gentes (35-36).

O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado pertencente à família *Coronaviridae* e ao gênero *Betacoronavirus* e tem grande homologia estrutural com seu antecessor, o SARS-CoV (37-40). Seu material genético é constituído por ácido ribonucleico (RNA) que forma uma fita simples de sentido positivo, o qual codifica proteínas estruturais e não estruturais (37). O conjunto de proteínas estruturais é composto pela proteína do nucleocapsídeo (N), que envolve o RNA viral, a proteína de membrana (M), a glicoproteína *spike* (S) e a proteína do envelope viral (E) (41-42) (Figura 1). A glicoproteína S forma um homotrímero que se salienta da superfície do vírion do SARS-CoV-2 e sua subunidade S1 contém a região chamada de *receptor binding domain* (RBD), por meio da qual é estabelecida ligação com a membrana celular das células do hospedeiro ao se ligar ao receptor da enzima conversora de angiotensina (ECA) tipo 2 presente nas células humanas (43). Por meio dessa ligação ocorre a fusão com a membrana celular e, por consequência, a entrada do vírus no meio intracelular (43-44).

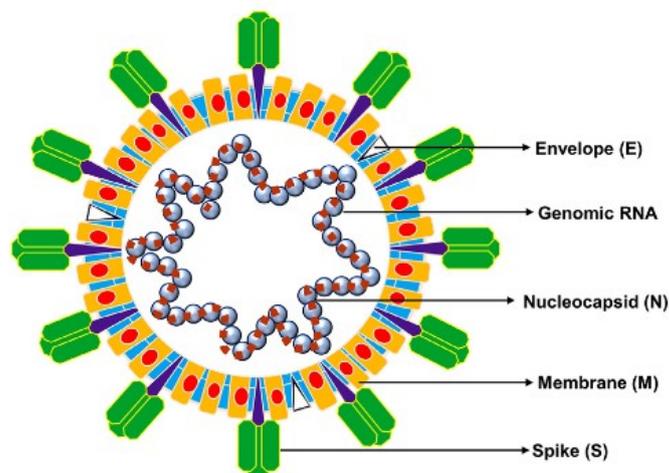


Figura 2. Estrutura do SARS-CoV-2. Adaptado de Kirtpal et al (45)

2.3 Transmissão da COVID-19

O vírus é de rápida e fácil transmissão entre seres humanos, ocorrendo a transmissão pessoa a pessoa principalmente por contato com secreções respiratórias e inalação de gotículas e aerossóis contendo o vírus (46-47). Embora a presença de SARS-CoV-2 tenha sido identificada em amostras não respiratórias como sangue, fezes, sêmen e secreção ocular, o papel desses meios para a transmissão entre pessoas não está plenamente estabelecido (48-52).

Indivíduos infectados têm maior potencial de transmissão nos primeiros dias de sintomas, quando há maior presença do vírus nas secreções respiratórias (53-56). A presença de RNA viral em amostras biológicas pode ser identificada por períodos prolongados após o início dos sintomas, inclusive por meses, porém a presença de vírus viável isolado em cultura costuma ocorrer apenas nos primeiros dias, o que indica que a presença de RNA viral detectado em períodos prolongados não significa, necessariamente, potencial para transmissibilidade (57-58). A possibilidade de transmissão por parte de indivíduos assintomáticos também é reconhecida (55, 59-60).

Outros fatores apontados como relacionados a maior risco de infecção são a maneira como se dá o contato entre os indivíduos, especialmente no que tange à duração da exposição e proximidade, fatores ambientais, como o tipo de ambiente em que ocorre a exposição e a presença ou não de ventilação, e fatores socioeconômicos, como elevado número de contactantes domiciliares (59). Ademais, mutações no genoma do SARS-CoV-2 têm resultado em variantes com potencial de maior transmissibilidade (61-63).

A fácil transmissão do vírus fez com que rapidamente sua presença fosse detectada em diferentes partes do globo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a COVID-19 como uma emergência de saúde pública de importância internacional em janeiro de 2020 e classificou-a como pandemia em março do mesmo ano (64).

2.4 Manifestações clínicas da COVID-19

As manifestações clínicas da COVID-19 habitualmente são variadas e inespecíficas, sendo muitas semelhantes a outras doenças infecciosas virais respiratórias (65-66). O período de incubação da doença tem tempo médio de 4 a 8 dias e costuma respeitar o intervalo de 2 a 7 dias, mas pode chegar a 14 dias ou mais em pequeno percentual dos indivíduos expostos e infectados (65, 67-68).

O espectro de manifestações clínicas varia de casos assintomáticos, formas leves a graves, até morte pela doença (46, 66, 69). O volume de infecções assintomáticas não é desprezível (70), o que dificulta a identificação e isolamento desses indivíduos. Sintomas reportados mais comumente se originam do trato respiratório, especialmente das vias aéreas superiores, como tosse, dor de garganta, coriza, cefaleia, mas também são comuns sintomas sistêmicos, como febre, fadiga, dor corporal difusa (65-66, 71-72), e menos comumente podem haver sintomas intestinais, neurológicos, entre outros (51, 66, 71, 78). Sintomas de alteração de olfato e paladar costumam ser mais frequentes em casos de COVID-19 do que em outras doenças causadas por outros vírus respiratórios, como o vírus influenza (71, 73).

A maior parte dos casos sintomáticos desenvolve formas leves da doença (46, 66), mas cerca de 14% dos casos necessitam de hospitalização e 2% de internação em unidade de tratamento intensivo (UTI), segundo dados norteamericanos (72). Pneumonia viral costuma ser a manifestação clínica grave mais frequente (66, 74).

As formas graves da doença se caracterizam pelo desenvolvimento de síndrome da angústia respiratória aguda grave (ou síndrome do desconforto respiratório agudo) associada à ativação excessiva da cascata da inflamação, morte celular e dano tecidual (46, 65, 75-76). As manifestações das formas graves da doença também podem ser diversas e incluem insuficiência respiratória (66, 77), manifestações neurológicas (78), disfunção cardiovascular (74, 79), eventos tromboembólicos (80-82), e complicações inflamatórias e autoimunes, como síndrome de Guillain-Barré (83) e síndrome inflamatória multissistêmica semelhante à doença de Kawasaki (84-85), essa última especialmente em crianças.

Alguns dos fatores de risco identificados para desenvolvimento de formas graves da doença são idade, com indivíduos mais velhos apresentando maior risco (77, 86), presença de comorbidades (77, 87, 88, 214, 215), sexo masculino (79, 87-90) e fatores socioeconômicos (88, 91-92). Além disso, entre os indivíduos que superam o período agudo da doença existe a possibilidade de persistência de sintomas prolongados ou desenvolvimento de sequelas (93-97).

A taxa de letalidade da COVID-19 é reportada como entre 0,15% e 11% (46, 72, 98-100). Diferenças entre o perfil dos pacientes avaliados e na capacidade de diagnóstico e de identificação dos casos entre os sistemas de saúde ao redor do mundo podem estar associadas a heterogeneidade nas taxas de letalidade reportadas. A mortalidade tende a ser maior quanto maior a idade do doente, podendo atingir valores de 15% entre octogenários (88, 101). Também é maior em pessoas com comorbidades (77) e entre os casos de maior gravidade, alcançando patamares da ordem de 50% a 60% entre os casos críticos (46, 72, 77, 99). Locais com menos recursos, como países pobres, também podem apresentar maiores taxas de letalidade pela COVID-19 (102).

Entre fevereiro e novembro de 2021 o mundo avançou de mais de 113 milhões de casos de COVID-19 e de 2,5 milhões de mortes (103) para mais de 250 milhões de casos e 5 milhões de mortes pela doença (216). O Brasil, até novembro de 2021, somava mais de 21 milhões de casos e mais de 600 mil mortes (217).

2.5 Diagnóstico da COVID-19

O correto e rápido diagnóstico da COVID-19 é fundamental para permitir o adequado e pronto isolamento de indivíduos transmissores, ponto fundamental no combate à pandemia (46).

Tendo em vista a grande inespecificidade de suas manifestações clínicas, exames complementares são fundamentais no processo diagnóstico, sendo que testes moleculares de amplificação de material genético viral, como o teste de *Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR), são considerados o padrão ouro (36, 104-106). No entanto, fatores como alta demanda, necessidade de laboratório especializado de alta complexidade, custos elevados e escassez de insumos podem limitar o uso de RT-PCR em larga escala, especialmente em sistemas de saúde públicos como o brasileiro. Além disso, fatores como o tempo desde o início dos sintomas no momento da coleta da amostra biológica, assim como a origem da amostra (*swab* de orofaringe e/ou nasofaringe, escarro, ou outra) e sua qualidade, podem levar a resultados falsos negativos (107-111), fazendo com que a sensibilidade do teste seja reportada como tão baixa quanto 70% em alguns cenários clínicos (112). Isso fez com que estratégias para ampliar a sensibilidade do processo diagnóstico fossem criadas (113), como o uso sequencial do RT-PCR (114-116) e a adoção de exames complementares ao teste molecular, como tomografia computadorizada (117-119). Estudo nacional identificou que a realização de estratégia diagnóstica baseada em testagem e retestagem com RT-PCR em profissionais de saúde sintomáticos atuantes em hospital terciário não se mostrou produtiva em período de baixa prevalência comunitária de COVID-19 (71).

2.6 Resposta imune à COVID-19

A resposta imune que se desenvolve após exposição ao vírus é resultado da ação conjunta de linfócitos B, responsáveis pela produção de anticorpos característicos da imunidade humoral, e de linfócitos T, responsáveis pela imunidade celular e por auxiliar as células B na promoção da imunidade humoral (120-123). O desenvolvimento de imunidade adaptativa prolongada depende de células B e T de memória antígeno específicas (124-125). Redução de linfócitos B totais e aumento de plasmoblastos (126), presença de células B de memória produtoras de IgG específico para o antígeno RBD (18, 21) e de células T CD4 de memória específicas para proteína *spike* foram identificadas em casos avaliados em período maior do que 3 meses após o diagnóstico de COVID-19 (21).

Estudo que avaliou pacientes em até 8 meses após infecção por COVID-19 identificou que há aumento de células B de memória contra proteína *Spike* entre 1 e 8 meses e persistência principalmente de células produtoras de imunoglobulina de isotipo IgG, e em menor grau de IgA, enquanto que células produtoras de IgM parecem ter meia vida de duração menor (122). Esse estudo também identificou que células T CD8 e T CD4 de memória contra proteínas do SARS-CoV-

2 decaem com meia vida inicial de 3 a 5 meses, estando presentes em 6 a 8 meses após infecção em cerca de 50% e em 92% dos indivíduos, respectivamente (122).

Componentes das proteínas estruturais do SARS-CoV-2, como a proteína S, seu domínio RBD, e a proteína do nucleocapsídeo são alvos antigênicos para a produção de anticorpos pelo sistema imune do hospedeiro (44, 127-130). A detecção de anticorpos após o início da infecção é observada nas primeiras semanas, com soroconversão para IgM e IgG ocorrendo geralmente em 1 a 3 semanas após início dos sintomas (131-132). Aqueles indivíduos que não soroconvertem inicialmente após o início dos sintomas tendem a fazê-lo nos primeiros meses, atingindo frequência de soroconversão em mais de 90% dos casos (19, 133-134), inclusive entre assintomáticos (69).

A resposta imune humoral pode ser influenciada pela gravidade da doença no tocante ao volume de anticorpos produzidos (135). Pacientes com sintomas mais graves podem apresentar títulos de anticorpos mais elevados do que aqueles com sintomas leves (19, 131), tanto para anticorpos contra o domínio S1 da proteína *Spike* (126) e seu domínio RBD quanto contra a proteína de nucleocapsídeo (135), quando avaliados por teste *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA). Porém, a relação entre os títulos de anticorpos e a gravidade da doença parece diminuir ao longo dos meses seguintes após o diagnóstico da doença (136).

Outros fatores clínicos como idade e índice de massa corporal (IMC) têm sido associados positivamente à produção de maiores títulos de anticorpos e maior tempo de duração de positividade sorológica após o quadro de COVID-19 (13, 19, 137), enquanto que o uso de anti-inflamatórios parece se associar negativamente (19). Já a relação entre o uso de corticoide sistêmico, usado principalmente no tratamento de formas graves da doença (138), e a resposta sorológica merece maior atenção, pois há indícios de que seu uso possa ter efeito negativo (139).

Um dos mecanismos pelos quais os anticorpos atuam na proteção contra o SARS-CoV-2 é por meio da sua ligação com estruturas virais como a proteína *spike* e seu domínio RBD e com isso dificultam a ligação do vírus com a célula hospedeira (120-121). Estudos identificaram que a presença de anticorpos com atividade neutralizante sobre o SARS-CoV-2 correlaciona-se com a presença de anticorpos contra os antígenos RBD e proteína S (122, 134, 140-142). Essa correlação parece surgir desde as primeiras semanas após o início dos sintomas (13) e se manter por ao menos 6 meses (139).

No entanto, anticorpos com especificidade para nucleocapsídeo não apresentam relação tão forte com anticorpos com capacidade neutralizante. Pan et al (143) avaliaram 171 indivíduos por até 11 meses após recuperação de internação por COVID-19 e identificaram correlação entre a presença de anticorpos neutralizantes e a presença IgG anti proteína S e anti RBD, sendo identificada presença de anticorpos neutralizantes em 94,4% dos indivíduos avaliados em 7-8 meses e em 71,4%

daqueles avaliados em 9 a 11 meses após a doença. Esse trabalho também avaliou IgG anti nucleocapsídeo e não encontrou relação entre esse anticorpo e a presença de anticorpos neutralizantes. Legros et al (144) avaliaram coorte de 140 pacientes por período de até 60 dias após início dos sintomas, tendo a maior parte sido hospitalizada ou internada em UTI por COVID-19, e identificaram que a presença de IgG anti proteína S avaliado por *chemiluminescent microparticle immunoassay* (CLIA, Diasorin) se associou fortemente à presença de anticorpos neutralizantes (ρ de Spearman=0,70), mas a presença de IgG anti nucleocapsídeo avaliado por CMIA (Abbott) demonstrou menor associação (ρ de Spearman=0,51).

Outro ponto importante acerca da imunidade humoral é o achado de que anticorpos produzidos após infecção por coronavírus endêmicos não apresentam ação neutralizantes contra SARS-CoV-2 (144). Ademais, anticorpos neutralizantes gerados por uma variante viral também parecem não demonstrar a mesma capacidade neutralizante sobre outras variantes (145-147).

O entendimento a respeito da estrutura viral e da resposta imune contribuíram para o desenvolvimento de medida de extrema importância no combate à pandemia por COVID-19, a criação de vacinas. As primeiras vacinas disponíveis para uso no sistema público brasileiro e aplicadas em profissionais de saúde foram a ChAdOx1, vacina de vetor viral que expressa proteína S (148-150), e a vacina CoronaVac, vacina de vírus inativado (151-152). A vacinação tem se associado à redução do número de novos casos de COVID-19 entre profissionais de saúde (153).

2.7 Testes sorológicos para COVID-19

O emprego de testes sorológicos fornece medida de exposição prévia ao SARS-CoV-2 e constitui ferramenta importante no entendimento da progressão da pandemia (2, 154-155). Seu uso tem sido descrito principalmente no monitoramento da taxa cumulativa de infecção por meio de estudos de soroprevalência (2-4), os quais são especialmente importantes em contextos onde muitos casos não são documentados por RT-PCR (156). Estudos prévios também sugeriram que o uso desses testes pudesse contribuir para aumento da sensibilidade do processo diagnóstico da COVID-19 (5-11), principalmente após os primeiros dias de sintomas, quando a sensibilidade do teste RT-PCR tende a diminuir e a taxa de detecção de anticorpos tende a aumentar (12-16). Seu uso na avaliação de risco para reinfecção também é descrito (17, 157).

Diversos testes sorológicos são comercializados para detecção de anticorpos contra o SARS-CoV-2, havendo variabilidade de técnicas aplicadas e de alvos antigênicos. Algumas das técnicas laboratoriais que têm sido empregadas são ELISA (13, 18, 20, 158), *electrochemiluminescence immunoassay* (ECLIA) (3), CLIA (159-160) e CMIA (2). A especificidade antigênica desses testes

costuma ser direcionada à glicoproteína S (20), especialmente a sua unidade S1 (19, 158) e seu domínio RBD (13, 18-20, 137, 158) e à proteína do nucleocapsídeo (2-3, 19-20, 137, 158).

Aprovado para uso no Brasil está, entre outros testes, o teste CMIA fabricado pela empresa Abbott para detecção de IgG ou IgM séricos contra SARS-CoV-2. O teste é um ensaio qualitativo, automatizado em dois passos, e processado no analisador de imunoenaios ARCHITECT (Abbott), desenhado para detecção de IgG contra a proteína nucleocapsídeo e IgM contra a proteína S. No passo inicial do teste são misturados e incubados a amostra do paciente, o diluente do ensaio e micropartículas paramagnéticas revestidas com antígeno do SARS-CoV-2. Se presente, o anticorpo com especificidade para o antígeno do teste irá se ligar às micropartículas revestidas. No passo seguinte, a mistura da reação é lavada e o conjugado anti imunoglobulina humana marcado com acridínio é adicionado. Procede-se então a novo ciclo de lavagem e são adicionadas a solução *pre-trigger*, que separa o acridínio do conjugado que está ligado às micropartículas, e a solução *trigger* (hidróxido de sódio), que gera reação oxidativa com acridínio. Esses passos produzem a reação de quimioluminescência que irá ser medida em unidades relativas de luz (*relative light unit*, RLU). A avaliação da presença de anticorpos na amostra se dá pela comparação da RLU da amostra com a RLU do calibrador, gerando o índice sinal/*cutoff* (S/C). Existe relação direta entre a produção de RLU medida e a quantidade de anticorpos presentes na amostra. A interpretação dos resultados, conforme orientação do fabricante, indica teste positivo aquele com valor de S/C maior ou igual a 1,4 para avaliação de IgG anti nucleocapsídeo e maior ou igual a 1,0 para avaliação de IgM anti proteína S. A especificidade do teste para IgG foi descrita como de 99,6% a 99,9% em estudo que utilizou como controle amostras pré-pandemia (161-162). Também nenhuma reação cruzada foi identificada em amostras com sorologia positiva para outras doenças virais ou doenças autoimunes, incluindo amostras positivas para fator reumatoide (161). O teste apresenta sensibilidade de até 100% em até 17 dias após início dos sintomas (162).

2.8 Testes sorológicos aplicados em período prolongado após o diagnóstico de COVID-19

A positividade de anticorpos contra SARS-CoV-2 em períodos prolongados após a infecção varia conforme o isotipo do anticorpo avaliado. Os níveis de IgM tendem a reduzir mais precocemente do que IgG (163) e o tempo transcorrido desde a infecção até a realização de teste sorológico se relaciona negativamente com o nível de anticorpos anti SARS-CoV-2 (164). Prevalência de IgG positivo maior do que 90% tem sido descrita com teste ELISA voltado para detecção de IgG anti RDB em 31 semanas após diagnóstico (18) e com teste ECLIA específico para

RBD e também para nucleocapsídeo em até 8 meses após diagnóstico (137). O mesmo, no entanto, não ocorre com IgM, para o qual a positividade em períodos tardios tende a ser menor (16, 18-21) e a sororeversão é descrita como ocorrendo em até 60 dias após o episódio de COVID-19 (13).

O tipo de técnica laboratorial e a especificidade antigênica do teste aplicado também parecem influenciar na capacidade de detecção de anticorpos contra SARS-CoV-2 em diferentes períodos após a recuperação da doença (Tabela 2). Estudo longitudinal calculou em 85 dias (IC 95%: 81-90) a meia vida estimada de IgG anti nucleocapsídeo (CMIA, Abbott) e o tempo médio para negatividade do exame foi de 137 dias (IC 95%: 127-148) (165). Outro trabalho avaliou por ELISA a presença de anticorpos por até 8 meses em indivíduos recuperados de COVID-19 e estimou a meia vida para anticorpos IgG anti proteína S em 140 dias (IC 95%: 89-325), para IgG anti nucleocapsídeo em 68 dias (IC 95%: 50-106) e para IgG anti RBD de 83 dias (IC 95%: 62 a 126) (122). Muecksch et al (22) identificaram queda da taxa de positividade de teste CMIA (Abbott) maior do que a observada em outros testes comercializados em período de 81 dias após RT-PCR positivo. O teste CMIA (Abbott) apresentou taxa de positividade para IgG anti nucleocapsídeo de 70,73% (IC 95%: 54,5-83,9), enquanto teste CLIA (DiaSorin) para IgG anti proteína S apresentou 92,68% (IC 95%: 80,1-98,5) de positividade, e teste para detecção de anticorpos totais contra nucleocapsídeo por ECLIA (Roche) e CLIA (Siemens) apresentaram ambos valor de 97,56% (IC 95%: 87,1-100), todos aplicados no mesmo conjunto de indivíduos tratados ambulatorialmente para COVID-19. Outro estudo avaliou 55 indivíduos, todos profissionais de saúde, testados com quatro testes comerciais para presença de anticorpos contra SARS-CoV-2 em 29 dias (IIQ 24-32) e 142 dias (IIQ 136-151) após início dos sintomas, tendo a maioria apresentado sintomas leves (23). Os percentuais de positividade no primeiro e segundo momento foram de 78,6% (IIQ: 70,1-87,2) e 45,4% (IIQ: 32,2-58,6) para IgG anti nucleocapsídeo avaliado por CMIA (Abbott), 85,4% (IIQ: 78,1-92,7) e 100% (IIQ: 100-100) para IgM/IgG anti nucleocapsídeo avaliado por ECLIA (Roche), 86,5% (IIQ: 79,4-93,6) e 100% (IIQ: 100-100) para IgM/IgG anti RBD avaliado por CLIA (Siemens) e 78,6% (IIQ: 70,1-87,2) e 80% (IIQ: 69,4-90,6) para IgG anti proteína S avaliado por teste CLIA (DiaSorin), respectivamente (23). Outro estudo comparou o teste CMIA (Abbott) para detecção de IgG antinucleocapsídeo com o teste ECLIA (Roche) para avaliação de anticorpos totais contra o mesmo antígeno, aplicados em profissionais de saúde, e identificou que a soroprevalência medida pelo primeiro teste foi de 4,2% e pelo segundo foi de 9,5% (24). Também identificou que entre os 367 indivíduos com infecção prévia documentada por PCR, 35,3% tiveram anticorpos detectados pelo teste CMIA (Abbott) e 100% pelo teste ECLIA (Roche) em 24 semanas após a doença (24). Esses dados sugerem que o teste por imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência disponibilizado pela empresa Abbott e voltado para detecção de IgG anti

nucleocapsídeo possa ter desempenho inferior a outros testes comercializados quando aplicados em período maior do que 3 meses após o diagnóstico de COVID-19.

Tabela 2. Estudos avaliando testes sorológicos contra SARS-CoV-2 em período prolongado após a doença.

Autor	Delineamento	Tempo de seguimento*	População**	Testes, anticorpos, especificidade antigênica	Positividade sorológica (%) [‡]
Zheng (172)	Longitudinal	Até 6 meses	n=172 32% > 65 anos 47,1% mulheres 37,8% casos graves ou críticos	CLIA (Mindray Bio-Medical Electronics) IgM e IgG N, RBD e S1 total (IgG ou IgM)	IgG, IgG-N, IgG-RBD, e S1 total: > 90% IgM, IgM-N, IgM-RBD: cerca de 25%
Achiron (164)	Longitudinal	Até 8-9 meses	n=109 (6 meses) e 55 (9 meses) 33,4 (22,2-45,5) [#] anos 27,6% mulheres 8,7% assintomáticos	ELISA (Euroimmun) IgG, S1	Positivo na maioria dos indivíduos em 9 meses.
Wu (190)	Longitudinal	26 semanas	n=349 (5 ao final do seguimento)	CLIA (MAGLUMI™ 4000 Plus, Snibe) IgM e IgG N, RBD	IgG N: 100% IgG RBD: 100% IgM N: 0% IgM RBD: 20%
Gerhards (137)	Longitudinal	6-8 meses	n=61 46,4 (18-76) anos 59% mulheres 9,8% previamente hospitalizados	ECLIA (Elecsys, Roche) Ig Total N e RBD	Ig N: 88,5% Ig RBD: 91,8%
Harris (192)	Longitudinal	26-52 semanas	n=2246 40 (18-71) anos 69% mulheres	1. ELISA (Euroimmun) IgG, S1 2. ECLIA (Elecsys, Roche) Ig total (IgM e IgG), RBD 3. ECLIA (Elecsys,	Sororeversão em 26 semanas: 1: 37% 2: 2% 3: 5% 4: 49% Sororeversão em 52 semanas:

				Roche) Ig total (IgM e IgG), N 4. CMIA (Abbott) IgG, N	1: 59% 2: < 2% 3: 10% 4: 100%
Li (193)	Transversal	Até 12 meses	n=167 (6 meses); 233 (12 meses) Doadores de plasma	ELISA IgG, RBD	6 meses após diagnóstico: 84,4% 12 meses após diagnóstico: 83,7%
Xiang (146)	Longitudinal	Até 12 meses	n=76 60 (46,5-67) [#] anos 53,9% mulheres 30,2% casos graves	CLIA (MAGLUMI™ 4000 Plus, Snibe) IgM e IgG N e RBD	12 meses: IgG N: 90% IgG RBD: 90% IgM N: 1,3% IgM RBD: 5,3% 6 meses: IgG N: 100% IgG RBD: 100% IgM N: 3,8% IgM RBD: 26,9%
García- Abellán (194)	Longitudinal	6 meses	n=116 64 anos 39,7% mulheres 100% previamente hospitalizados	ELISA (Euroimmun) IgG, N e S1	IgG N: 76,7% IgG S: 94,8%
Bal (166)	Longitudinal	6 meses	n=296 41 (32-51) [#] anos 82,8% mulheres	1. ELISA (Wantai) Ig Total, RBD 2. NE (BioMérieux Vidas) IgG, RBD 3. CMIA (Architect, Abbott) IgG, N	1. 100% 2. 84,8% 3. 55,4%
Alkaabi (160)	Longitudinal	49-168 dias	n=113 (27 ao final do seguimento) 45,9 (11,8) ^{&} anos 12,4% mulheres	CLIA (Liaison XL, DiaSorin) IgG, S1	100%
Moriyama (167)	Longitudinal	Até 10 meses	n=120 19 a 93 anos	ELISA IgG, RBD	95,4%

			23,4% casos graves		
Noh (168)	Longitudinal	6 meses	n=63 46,7 (8,9) ^{&} anos 18,6% mulheres	CMIA (Abbott) IgG, N	66,7%
Masiá (169)	Longitudinal	Até 12 meses	n=80 59,5 (52-69) [#] anos 38,8% mulheres 100% previamente hospitalizados	ELISA (Euroimmun) IgG N e S	IgG S: 91,2% IgG N: 43,8%
Kiefer (170)	Longitudinal	6 meses	n=126 35 (29,5-47,5) [#] anos 100% mulheres	ELISA (Epitope Diagnostics) IgG e IgM N	IgM: 0% IgG: 21%
Anand (18)	Longitudinal	8 meses	n=32 (13 ao final do seguimento) 46 (20-65) anos 30,8% mulheres	ELISA IgA, IgM e IgG RBD	IgG: 100% IgM: 85% IgA: 69%
Figueiredo-Campos (139)	Transversal	107 dias (47-199) ¹	n=209 37,9 (18-58) anos 33% mulheres	ELISA IgA, IgM e IgG RBD	IgG RBD: 88% (nos diferentes tempos coletados) IgM e IgA RBD: NE
Liu (171)	Transversal	6 meses	n=52 54 (42-61) [#] anos 36,5% mulheres 53,8% graves ou críticos	CMIA (Bioscience Biotechnology) IgM e IgG RBD	IgG: 95,5% IgM: 22,7%
Lumley (165)	Longitudinal	Até 6 meses ²	n=76 41 (17-69) anos 75% mulheres Casos leves ou assintomáticos	CMIA (Architect, Abbott) IgG, N ELISA (in house) IgG, S	IgG N: 56% IgG S: 97%
Dan (122)	Longitudinal	6-240 dias	n=43 40 (19-81) anos 57% mulheres 7% previamente hospitalizados	ELISA IgG N, S e RBD	IgG S: 90% IgG RBD: 88% IgG N: NE
L'Huillier (173)	Longitudinal	Até 6 meses	n=196 40 (30-51) anos 71% mulheres 2,5% previamente hospitalizados	ECLIA (Elecsys, Roche) Ig total N e RBD	Ig RBD: 100% Ig N: 98%

Elslande (174)	Longitudinal	180-240 dias	n=236 61 (24-91) anos 41,1% mulheres 80% casos graves	CMIA (Architect, Abbott) IgG, N	Casos graves: 69% Casos leves: 33,3%
He (175)	Transversal	7 a 8 meses ³	n=454 0 a > 66 anos 59% mulheres	ELISA IgG, IgM N	IgG N: 91% IgM N: 1,5%
Tomassetti (176)	Longitudinal	6 meses	n=72 22 a 81 anos 34,7% mulheres 37 previamente hospitalizados	CLIA (MAGLUMI, Snibe) IgG, RBD	Não hospitalizados: 65,7% Hospitalizados: 97,3%
Glöckner (159)	Longitudinal	6 e 12 meses	n=40 64 (53-72) [#] anos 47,5% mulheres	CLIA (Liaison, DiaSorin's) IgG, S1	6 meses: 92,5% 12 meses: 77,8%
Zhang (177)	Longitudinal	6 e 12 meses	n= 81 (6 meses) e 74 (12 meses) assintomáticos a cl clinicamente graves	ELISA IgM e IgG, RBD CMIA IgM e IgG, RBD	6 meses: ELISA IgM: 52% ELISA IgG: 96% CMIA IgM: 63% CMIA IgG: 98% 12 meses: ELISA IgM: 35% ELISA IgG: 96% CMIA IgM: 51% CMIA IgG: 95%
Löfström (178)	Longitudinal	6 meses	n=64 50 anos 65% mulheres	ECLIA (Elecsys, Roche) Ig total, N	88,7%
Vanshylla (179)	Longitudinal	Até 10 meses	n=430 (30 semanas) e 137 (38 semanas) 44 (18-79) anos 53,9% mulheres	ELISA (Euroimmun) IgG, S	30 semanas: 74,9% 38 semanas: 73%
De Giorgi	Longitudinal	Até 291	n=116	CLIA (Vitros,	91,40%

(180)		dias ⁴	50,5 (19-79) anos 55,1% mulheres	Ortho-Clinical Diagnostics) Ig Total (IgG, IgM, IgA) e IgG S	
Varona (181)	Longitudinal	274 (265- 280) dias	n=306 49% > 45 anos 69,9% mulheres	ELISA IgG, S + N	IgG: 76,8%
Wang (182)	Longitudinal	9-10 meses	n=191 61 (51-67) [#] anos 51,2% mulheres	ELISA IgG e IgM, NE IgG, RBD	IgM NE: 20,4% IgG NE: 97,9% IgG RBD: 97,4%
Mobaraki (183)	Longitudinal	8 meses	n=30 30 a 57 anos 63,3% mulheres doença leve a moderada	CLIA (MAGLUMI®) IgM, IgG N	IgM: 9,3% IgG: 76,7%
Mobaraki (184)	Longitudinal	14 meses	n=32 65,6% mulheres	CLIA (MAGLUMI, Snibe) IgG, RBD	96,8%
Sim (23)	Longitudinal	142 (136- 151) dias	n=55	1. ECLIA (Roche) IgM/IgG, N 2. CMIA (Architect, Abbott) IgG, N 3. CLIA (Centaur, Siemens) IgM/IgG, RBD 4. CLIA (Liaison, Diasorin) IgG, S1	1. 100% 2. 45,4% 3. 100% 4. 80%
Grandjean (185)	Longitudinal	122 dias (65-157)	n= 3679 (249 avaliados em 150 dias) 18-70 anos 80% mulheres	CLIA (Meso Scale Discovery) IgG, N, S, RBD	Sensibilidade em 150 dias IgG N: 93,5% IgG S: 99,1% IGR: NR
Peghin	Longitudinal	Até 10 meses	n=546 54 anos	CLIA (iFlash- SARS-CoV-2,	IgM: < 10% IgG: 50-60%

(186)			53,5% mulheres	Shenzhen Yhlo Biotech) IgM, IgG N, S	
Aubry (187)	Longitudinal	Até 8 meses	n=61 (43 em 180 dias) 74 (26-98) anos 59% mulheres	1. CLIA (Abbott), IgG, N 2. ELISA (Bio-Rad), Ig Ttotal, N 3. ELISA (Euroimmun), IgA e IgG, S1 4. ELISA (Wantai), Ig total, RBD 5. ELISA (Innobiochips), IgG, S1, S2, N, RBD	180 dias: 1. 61% 2. 83% 3. IgA: 76% 3. IgG: 80% 4. 89% 5. 85%
Bond (188)	Longitudinal	121-210 dias	n=131	1. CMIA (Abbott Architect), IgG, N 2. CMIA (Liaison, Diasorin), IgG, S1/S2 3. ECLIA (Elecsys, Roche) Ig total, N	> 151 dias: 1. 68,2% 2. 88,6% 3. 97,7%
Gallais (189)	Longitudinal	11-13 meses	n=393 39 (30-51) [#] 76,8% mulheres	1. ELISA (EDI), IgG, N 2. CMIA (Abbott Architect), IgG, RBD	1. 20,1% 2. 97,1%
Bylicki (191)	Longitudinal	9 meses	n=86 31 (25-38) [#] anos 12,8% mulheres	ECLIA (Elecsys, Roche) Ig total (IgM, IgG, e IgA), N	93%
Iversen (157)	Longitudinal	6 meses	n=22457 (44,9 anos (12,8) ^{&}	ELISA (Wantai), Ig Total (IgA,	94,5%

IgM, IgG),
RBD

n=número absoluto; NR. Não reportado; NE, não especificado; CMIA, *chemiluminescent microparticle immunoassay*; ECMIA, *electrochemiluminescence immunoassay*; ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*; N, nucleocapsídeo; RBD, *receptor binding domain*; S, glicoproteína S; S1, glicoproteína S unidade S1; S2, glicoproteína S unidade S2; DP, desvio padrão.

* Tempo após início dos sintomas ou diagnóstico, em mediana (intervalo interquartil) ou conforme especificado.

** Idade em mediana (mínimo e máximo), ou mediana (intervalo interquartil)[#], ou média (DP)[&]; n no *baseline* (n no final do seguimento do estudo ou em período de seguimento especificado).

£ Em percentual de indivíduos com teste positivo ao final do seguimento do estudo, ou conforme especificado.

1 – mínimo e máximo

2 – após pico de título de anticorpo

3 – após primeiro teste sorológico positivo

4 – após resolução dos sintomas

2.9 Profissionais de saúde e a COVID-19

Profissionais de saúde estão em especial risco para contaminação por SARS-CoV-2 (25-26, 195-197). Estudo identificou maior prevalência de COVID-19 entre profissionais de saúde brasileiros sintomáticos que exercem atividade com contato direto com pacientes (71), achado também evidenciado em outros países (60, 198-200). Exercer atividade profissional em área dedicada ao tratamento de pacientes com COVID-19 é apontada como associada à maior prevalência da doença em alguns trabalhos (71, 157). No entanto, outros estudos não identificaram diferença na prevalência entre profissionais atuantes em diferentes áreas de trabalho (201-202), ou ainda reportaram maior prevalência entre profissionais de áreas não dedicadas à pacientes com COVID-19 (203), o que poderia estar associado a menor intensidade da vigilância e de medidas preventivas aplicadas nessas áreas (34). Outro fator associado à contaminação entre profissionais de saúde, assim como em outras categorias profissionais, é a exposição ocorrida externamente ao ambiente de trabalho (203).

Promover a proteção de profissionais de saúde é importante para reduzir a transmissão nosocomial e com isso manter a capacidade assistencial das instituições de saúde (204). Medidas como o uso de equipamento pessoal de proteção (EPI) (203, 205-208), identificação precoce e pronto isolamento de indivíduos transmissores do vírus (60, 209-210), vacinação (153), definição de protocolos de ação, entre outras (211-213), podem auxiliar na prevenção e controle da transmissão.

A aplicação de testes sorológicos entre profissionais de saúde tem sido descrita em estudos de soroprevalência (27-29), rastreamento de indivíduos potencialmente infectados (17, 30), avaliação de

fatores de risco para contágio (17, 28, 32-33) e identificação de surtos (34). Os sistemas de saúde necessitam traçar estratégias de enfrentamento para a situação atual o mais acertadas possível dentro de orçamentos muitas vezes limitados. Entender a confiabilidade da informação trazida por determinado teste sorológico quando aplicado em diferentes contextos clínicos e em determinadas populações, como profissionais de saúde, pode contribuir nesse sentido.

2.10 Hospital de Clínicas de Porto Alegre

O Hospital de Clínicas de Porto Alegre é hospital universitário vinculado à Universidade Federal do Rio Grande do Sul, localizado na cidade de Porto Alegre, e conta com mais de 6 mil funcionários ativos. Desde o início da pandemia por COVID-19, atua como referência regional no tratamento a pacientes com a doença.

Considerando o potencial impacto negativo do adoecimento entre os trabalhadores, a instituição implantou medidas para redução da transmissão hospitalar da COVID-19 como, por exemplo, o fornecimento continuado de EPI, instituição de modalidade de trabalho remoto quando possível, afastamento de indivíduos considerados de alto risco para forma grave da doença, alojamento de pacientes portadores de COVID-19 em setores específicos, contratação de novos funcionários para atender ao aumento da demanda de trabalho.

O Serviço de Medicina Ocupacional do Hospital de Clínicas de Porto Alegre atuou constantemente na prevenção de infecção e na promoção da saúde entre os funcionários da instituição. Como medida de cuidado foi implantado ambulatório de atendimento clínico dedicado à avaliação diagnóstica dos trabalhadores sintomáticos com suspeita do COVID-19 e ao seguimento dos casos confirmados, independentemente da atividade profissional exercida ou da área de trabalho. Desde o início de suas atividades o ambulatório tem à disposição o teste RT-PCR para detecção de indivíduos portadores de SARS-CoV-2. Posteriormente também foram disponibilizados teste rápido de antígeno para SARS-CoV-2 e teste sorológico para detecção de IgG e IgM contra SARS-CoV-2 (CMIA, Abbott) para uso na rotina assistencial. Outras medidas implementadas pelo Serviço de Medicina Ocupacional foram a criação de tele atendimentos clínicos para orientação a casos suspeitos e acompanhamento remoto de casos confirmados de COVID-19, tele atendimentos psiquiátricos e psicológicos para apoio a profissionais diagnosticados com COVID-19 ou afetados pelo contexto atual, e a implantação de programa de vacinação contra COVID-19 com aplicação de vacina aos milhares de profissionais atuantes.

3. MARCO CONCEITUAL

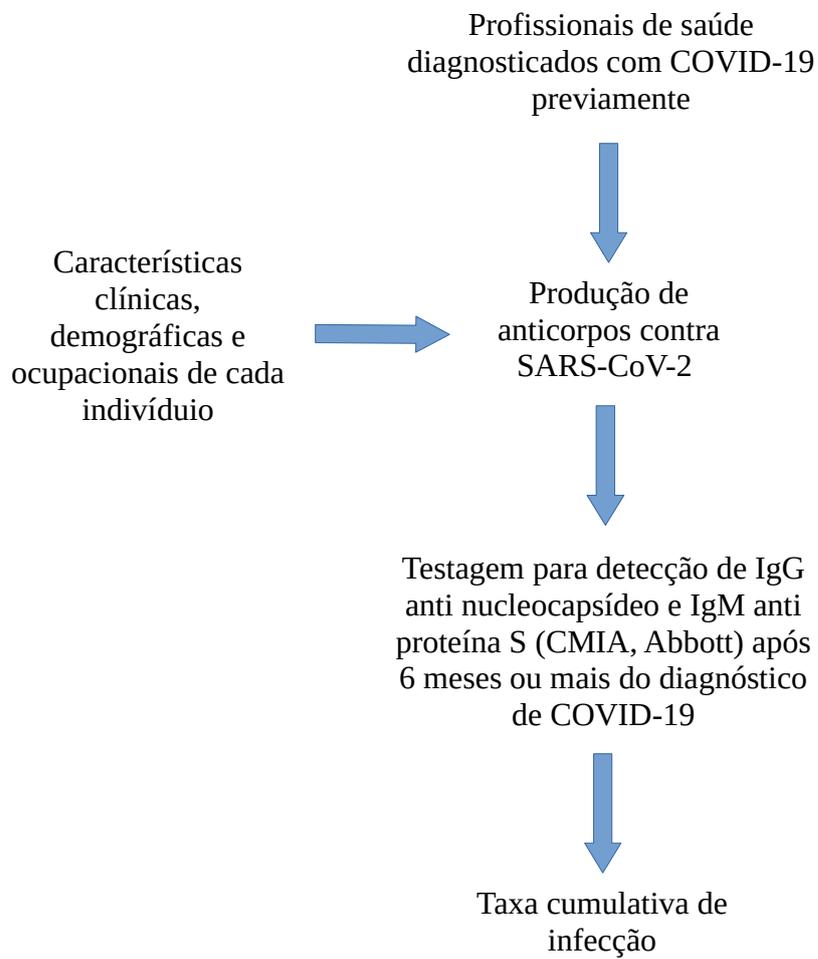


Figura 3 - Marco conceitual do estudo

4. JUSTIFICATIVA

Entender a capacidade de teste sorológico em detectar infecção prévia por SARS-CoV-2 quando aplicado a determinado perfil de indivíduos e de que maneira o tempo após a infecção influencia no desempenho do teste é fundamental para a avaliação crítica e consciente dos resultados de estudos de soroprevalência que empreguem o mesmo teste em populações de perfil clínico semelhante. Esse conhecimento qualifica a informação trazida por tais estudos, especialmente no tocante à mensuração da progressão da doença em uma população. Da mesma forma, permite que aspectos como a escolha do momento para aplicação do teste e a interpretação de seus resultados em diferentes períodos após a contaminação sejam avaliados com maior clareza.

Por se tratar de população em risco para infecção por COVID-19 e fundamental para a manutenção da capacidade assistencial dos sistemas de saúde, o emprego de medidas de proteção contra o contágio entre profissionais de saúde é de extrema importância. Informação de qualidade com relação a fatores como taxa de contaminação entre os profissionais de uma instituição de saúde pode contribuir para o planejamento de medidas de enfrentamento. Ademais, esses conhecimentos são importantes também para municiar os gestores com dados que auxiliem na tomada decisão sobre aquisição, ou não, de testes sorológicos contra SARS-CoV-2.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Descrever a prevalência de anticorpos contra SARS-CoV-2 identificados por teste de imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência voltado para detecção de IgG contra proteína do nucleocapsídeo e IgM contra proteína S de SARS-CoV-2 entre profissionais de saúde com diagnóstico de COVID-19 há 6 meses ou mais.

5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Identificar se fatores demográficos e clínicos, assim como fatores ocupacionais, estão associados à presença de teste sorológico positivo.

Descrever as características iniciais de uma coorte de profissionais de saúde com diagnóstico de COVID-19.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020 Feb 20;382(8):727-733.
2. Pollán M, Pérez-Gómez B, Pastor-Barriuso R, Oteo J, Hernán MA, Pérez-Olmeda M, et al. Prevalence of SARS-CoV-2 in Spain (ENE-COVID): a nationwide, population-based seroepidemiological study. *Lancet*. 2020 Aug 22;396(10250):535-544.
3. Silva AAM da, Lima-Neto LG, Azevedo C de MPES de, Costa LMM da, Bragança MLBM, Barros Filho AKD, et al. Population-based seroprevalence of SARS-CoV-2 and the herd immunity threshold in Maranhão. *Rev Saude Publica*. 2020 Dec 14;54:131.
4. Hallal PC, Hartwig FP, Horta BL, Silveira MF, Struchiner CJ, Vidaletti LP, et al. SARS-CoV-2 antibody prevalence in Brazil: results from two successive nationwide serological household surveys. *Lancet Glob Heal*. 2020 Nov;8(11):e1390-e1398.
5. Suhandynata RT, Hoffman MA, Kelner MJ, McLawhon RW, Reed SL, Fitzgerald RL. Longitudinal Monitoring of SARS-CoV-2 IgM and IgG Seropositivity to Detect COVID-19. *J Appl Lab Med*. 2020 Sep 1;5(5):908-920..
6. Wang H, Ai J, Loeffelholz MJ, Tang YW, Zhang W. Meta-analysis of diagnostic performance of serology tests for COVID-19: impact of assay design and post-symptom-onset intervals. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Dec;9(1):2200-2211.
7. Meng Q-B, Peng J-J, Wei X, Yang J-Y, Li P-C, Qu Z-W, et al. Clinical application of combined detection of SARS-CoV-2-specific antibody and nucleic acid. *World J Clin cases*. 2020 Oct 6;8(19):4360-4369.
8. Guo CC, Mi JQ, Nie H. Seropositivity rate and diagnostic accuracy of serological tests in 2019-nCoV cases: A pooled analysis of individual studies. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020 Oct;24(19):10208-10218.
9. Chen M, Qin R, Jiang M, Yang Z, Wen W, Li J. Clinical applications of detecting IgG, IgM or IgA antibody for the diagnosis of COVID-19: A meta-analysis and systematic review. *Int J Infect Dis*. 2021 Mar;104:415-422.
10. Higgins V, Fabros A, Wang XY, Bhandari M, Daghfal DJ, Kulasingam V. Anti-SARS-CoV-2 IgM improves clinical sensitivity early in disease course. *Clin Biochem*. 2021 Apr;90:1-7.

11. Liu R, Liu X, Yuan L, Han H, Shereen MA, Zhen J, et al. Analysis of adjunctive serological detection to nucleic acid test for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection diagnosis. *Int Immunopharmacol*. 2020 Sep;86:106746.
12. Sun B, Feng Y, Mo X, Zheng P, Wang Q, Li P, et al. Kinetics of SARS-CoV-2 specific IgM and IgG responses in COVID-19 patients. *Emerg Microbes Infect*. 2020 Dec;9(1):940-948.
13. Iyer AS, Jones FK, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D, et al. Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020 Oct 8;5(52):eabe0367.
14. Zhang G, Nie S, Zhang Z, Zhang Z. Longitudinal change of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *J Infect Dis*. 2020 Jun 29;222(2):183-188.
15. Isho B, Abe KT, Zuo M, Jamal AJ, Rathod B, Wang JH, et al. Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Sci Immunol*. 2020 Oct 8;5(52):eabe5511.
16. Post N, Eddy D, Huntley C, van Schalkwyk MCI, Shrotri M, Leeman D, et al. Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS One*. 2020 Dec 31;15(12):e0244126.
17. Lumley SF, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, Hatch SB, et al. Antibody Status and Incidence of SARS-CoV-2 Infection in Health Care Workers. *N Engl J Med*. 2021 Feb 11;384(6):533-540.
18. Anand SP, Prévost J, Nayrac M, Beaudoin-Bussièrès G, Benlarbi M, Gasser R, et al. Longitudinal analysis of humoral immunity against SARS-CoV-2 Spike in convalescent individuals up to 8 months post-symptom onset. *Cell Reports Med*. 2021 Jun 15;2(6):100290.
19. Gudbjartsson DF, Norddahl GL, Melsted P, Gunnarsdottir K, Holm H, Eythorsson E, et al. Humoral Immune Response to SARS-CoV-2 in Iceland. *N Engl J Med*. 2020 Oct 29;383(18):1724-1734.
20. Seow J, Graham C, Merrick B, Acors S, Pickering S, Steel KJA, et al. Longitudinal observation and decline of neutralizing antibody responses in the three months following SARS-CoV-2 infection in humans. *Nat Microbiol*. 2020 Dec;5(12):1598-1607.

21. Rodda LB, Netland J, Shehata L, Pruner KB, Morawski PA, Thouvenel CD, et al. Functional SARS-CoV-2-Specific Immune Memory Persists after Mild COVID-19. *Cell*. 2021 Jan 7;184(1):169-183.e17.
22. Muecksch F, Wise H, Batchelor B, Squires M, Semple E, Richardson C, et al. Longitudinal analysis of serology and neutralizing antibody levels in COVID19 convalescents. *J Infect Dis*. 2021 Feb 13;223(3):389-398..
23. Sim M, Cockcroft C, Darby D, Ellis CR, Heaps A, Scargill J, et al. Paired sensitivity analysis of four SARS-CoV-2 serological immunoassays in a longitudinal cohort of convalescent hospital staff. *Ann Clin Biochem*. 2021 Nov;58(6):646-649.
24. Allen N, Brady M, Carrion Martin AI, Domegan L, Walsh C, Houlihan E, et al. SARS-CoV-2 Antibody Testing in Health Care Workers: A Comparison of the Clinical Performance of Three Commercially Available Antibody Assays. *Microbiol Spectr*. 2021 Oct 31;9(2):e0039121.
25. Nguyen LH, Drew DA, Graham MS, Joshi AD, Guo CG, Ma W, et al. Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet Public Heal*. 2020 Sep;5(9):e475-e483.
26. Chou R, Dana T, Buckley DI, Selph S, Fu R, Totten AM. Epidemiology of and Risk Factors for Coronavirus Infection in Health Care Workers: A Living Rapid Review. *Ann Intern Med*. 2020 Jul 21;173(2):120-136.
27. Russo A, Calò F, Di Fraia A, Starace M, Minichini C, Gentile V, et al. Assessment and Comparison of Two Serological Approaches for the Surveillance of Health Workers Exposed to SARS-CoV-2. *Infect Drug Resist*. 2020 Dec 17;13:4501-4507.
28. Costa SF, Giavina-Bianchi P, Buss L, Mesquita Peres CH, Rafael MM, Dos Santos LGN, et al. SARS-CoV-2 seroprevalence and risk factors among oligo/asymptomatic healthcare workers(HCW): estimating the impact of community transmission. *Clin Infect Dis*. 2021 Sep 7;73(5):e1214-e1218.
29. Moncunill G, Mayor A, Santano R, Jiménez A, Vidal M, Tortajada M, et al. SARS-CoV-2 Seroprevalence and Antibody Kinetics Among Health Care Workers in a Spanish Hospital After 3 Months of Follow-up. *J Infect Dis*. 2021 Jan 4;223(1):62-71.
30. Vimercati L, Stefanizzi P, De Maria L, Caputi A, Cavone D, Quarato M, et al. Large-scale IgM and IgG SARS-CoV-2 serological screening among healthcare workers with a low

infection prevalence based on nasopharyngeal swab tests in an Italian university hospital: Perspectives for public health. *Environ Res*. 2021 Apr;195:110793.

31. Mullins KE, Merrill V, Ward M, King B, Rock P, Caswell M, et al. Validation of COVID-19 serologic tests and large scale screening of asymptomatic healthcare workers. *Clin Biochem*. 2021 Apr;90:23-27.
32. Laursen J, Petersen J, Didriksen M, Iversen K, Ullum H. Prevalence of SARS-CoV-2 igg/igm antibodies among danish and swedish falck emergency and non-emergency healthcare workers. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jan 21;18(3):923.
33. Calò F, Russo A, Camaioni C, De Pascalis S, Coppola N. Burden, risk assessment, surveillance and management of SARS-CoV-2 infection in health workers: A scoping review. *Infect Dis Poverty*. 2020 Oct 7;9(1):139.
34. Weinberger T, Steffen J, Osterman A, Mueller TT, Muenchhoff M, Wrtil PR, et al. Prospective Longitudinal Serosurvey of Health Care Workers in the First Wave of the SARS-CoV-2 Pandemic in a Quaternary Care Hospital in Munich, Germany. *Clin Infect Dis*. 2021 Nov 2;73(9):e3055-e3065.
35. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2019 Mar;17(3):181-192.
36. Hu B, Guo H, Zhou P, Shi Z-L. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. *Nat Rev Microbiol*. 2021 Mar;19(3):141-154.
37. Benvenuto D, Giovanetti M, Ciccozzi A, Spoto S, Angeletti S, Ciccozzi M. The 2019-new coronavirus epidemic: Evidence for virus evolution. *J Med Virol*. 2020 Apr;92(4):455-459.
38. Rota PA, Oberste MS, Monroe SS, Nix WA, Campagnoli R, Icenogle JP, et al. Characterization of a novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Science*. 2003 May 30;300(5624):1394-9.
39. Zhou P, Yang X Lou, Wang XG, Hu B, Zhang L, Zhang W, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020 Mar;579(7798):270-273.
40. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol*. 2020 Apr;5(4):536-544.

41. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020 Nov 25;10:587269.
42. Kim D, Lee J, Yang J, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell.* 2020 May 14;181(4):914-921.e10.
43. Xu X, Chen P, Wang J, Feng J, Zhou H, Li X, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci.* 2020 Mar;63(3):457-460.
44. Tai W, He L, Zhang X, Pu J, Voronin D, Jiang S, et al. Characterization of the receptor-binding domain (RBD) of 2019 novel coronavirus: implication for development of RBD protein as a viral attachment inhibitor and vaccine. *Cell Mol Immunol.* 2020 Jun;17(6):613-620.
45. Kirtipal N, Bharadwaj S, Kang SG. From SARS to SARS-CoV-2, insights on structure, pathogenicity and immunity aspects of pandemic human coronaviruses. *Infect Genet Evol.* 2020 Nov;85:104502.
46. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020 Apr 7;323(13):1239-1242.
47. Tang S, Mao Y, Jones RM, Tan Q, Ji JS, Li N, et al. Aerosol transmission of SARS-CoV-2? Evidence, prevention and control. 2020 Nov;144:106039.
48. Chen W, Lan Y, Yuan X, Deng X, Li Y, Cai X, et al. Detectable 2019-nCoV viral RNA in blood is a strong indicator for the further clinical severity. *Emerg Microbes Infect.* *Emerg Microbes Infect.* 2020 Feb 26;9(1):469-473.
49. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA.* 2020 May 12;323(18):1843-1844.
50. Colavita F, Lapa D, Carletti F, Lalle E, Bordi L, Marsella P, et al. SARS-CoV-2 Isolation From Ocular Secretions of a Patient With COVID-19 in Italy With Prolonged Viral RNA Detection. *Ann Intern Med.* 2020 Aug 4;173(3):242-243.

51. Cheung KS, Hung IF, Chan PP, Lung KC, Tso E, Liu R, et al. Gastrointestinal Manifestations of SARS-CoV-2 Infection and Virus Load in Fecal Samples from the Hong Kong Cohort and Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology*. 2020 Jul;159(1):81-95.
52. Li D, Jin M, Bao P, Zhao W, Zhang S. Clinical Characteristics and Results of Semen Tests Among Men With Coronavirus Disease 2019. *JAMA Netw Open*. 2020 May 1;3(5):e208292.
53. Zou L, Ruan F, Huang M, Liang L, Huang H, Hong Z, et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med*. 2020 Mar 19;382(12):1177-1179.
54. To KK-W, Tsang OT-Y, Leung W-S, Tam AR, Wu T-C, Lung DC, et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020 May;20(5):565-574.
55. He X, Lau EHY, Wu P, Deng X, Wang J, Hao X, et al. Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nat Med*. 2020 May;26(5):672-675.
56. Jones TC, Biele G, Mühlemann B, Veith T, Schneider J, Beheim-Schwarzbach J, et al. Estimating infectiousness throughout SARS-CoV-2 infection course. *Science*. 2021 Jul 9;373(6551):eabi527.
57. Fontana LM, Villamagna AH. Understanding viral shedding of severe acute respiratory coronavirus virus 2 (SARS-CoV-2): Review of current literature. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021 Jun;42(6):659-668.
58. Kim S min, Hwang YJ, Kwak Y. Prolonged SARS-CoV-2 detection and reversed RT-PCR results in mild or asymptomatic patients. *Infect Dis (Auckl)*. 2021 Jan;53(1):31-37.
59. Cevik M, Marcus JL, Buckee C, Smith TC. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (sarscov-2) transmission dynamics should inform policy. *Clin Infect Dis*. 2021 Jul 30;73(Suppl 2):S170-S176.
60. Rivett L, Sridhar S, Sparkes D, Routledge M, Jones NK, Forrest S, et al. Screening of healthcare workers for SARS-CoV-2 highlights the role of asymptomatic carriage in COVID-19 transmission. *Elife*. 2020 May 11;9:e58728.

61. Volz E, Mishra S, Chand M, Barrett JC, Johnson R, Geidelberg L, et al. Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Nature*. 2021 May;593(7858):266-269.
62. Davies NG, Abbott S, Barnard RC, Jarvis CI, Kucharski AJ, Munday JD, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science*. 2021 Apr 9;372(6538):eabg3055.
63. Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, Iranzadeh A, Fonseca V, Giandhari J, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature*. 2021 Apr;592(7854):438-443.
64. Cucinotta D, Vanelli M. WHO declares COVID-19 a pandemic. *Acta Biomed*. 2020 Mar 19;91(1):157-160.
65. Guan W-J, Ni Z-Y, Hu Y, Liang W-H, Ou C-Q, He J-X, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020 Apr 30;382(18):1708-1720.
66. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020 Feb 15;395(10223):497-506.
67. Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, et al. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-Infected Pneumonia. *N Engl J Med*. 2020 Mar 26;382(13):1199-1207.
68. Qin J, You C, Lin Q, Hu T, Yu S, Zhou XH. Estimation of incubation period distribution of COVID-19 using disease onset forward time: A novel cross-sectional and forward follow-up study. *Sci Adv*. 2020 Aug 14;6(33):eabc1202.
69. Long QX, Tang XJ, Shi QL, Li Q, Deng HJ, Yuan J, et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nat Med*. 2020 Aug;26(8):1200-1204.
70. Oran DP, Topol EJ. The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic : A Systematic Review. *Ann Intern Med*. 2021 May;174(5):655-662.
71. Schmidt Fernandes F, de Castro Cardoso Toniasso S, Castelo Branco Leitune J, Borba Brum MC, Bielefeldt Leotti V, Dantas Filho FF, et al. COVID-19 among healthcare workers in a Southern Brazilian Hospital and evaluation of a diagnostic strategy based on the RT-PCR test and retest for SARS-CoV-2. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2021 Apr;25(8):3365-3374.

72. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, et al. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020 Jun 19;69(24):759-765.
73. Zayet S, Kadiane-Oussou NJ, Lepiller Q, Zahra H, Royer PY, Toko L, et al. Clinical features of COVID-19 and influenza: a comparative study on Nord Franche-Comte cluster. *Microbes Infect.* 2020 Oct;22(9):481-488.
74. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA.* 2020 Mar 17;323(11):1061-1069.
75. Gibson PG, Qin L, Pua SH. COVID-19 acute respiratory distress syndrome (ARDS): clinical features and differences from typical pre-COVID-19 ARDS. *Med J Aust.* 2020 Jul;213(2):54-56.e1.
76. Cummings MJ, Baldwin MR, Abrams D, Jacobson SD, Meyer BJ, Balough EM, et al. Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. *Lancet.* 2020 Jun 6;395(10239):1763-1770.
77. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, Rajagopalan H, O'Donnell L, Chernyak Y, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: Prospective cohort study. *BMJ.* 2020 May 22;369:m1966.
78. Liotta EM, Batra A, Clark JR, Shlobin NA, Hoffman SC, Orban ZS, et al. Frequent neurologic manifestations and encephalopathy-associated morbidity in Covid-19 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020 Nov;7(11):2221-2230.
79. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. *BMJ.* 2020 Mar 31;368:m1295.
80. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, Arbous MS, Gommers DAMPJ, Kant KM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res.* 2020 Jul;191:145-147.
81. Bilaloglu S, Aphinyanaphongs Y, Jones S, Iturrate E, Hochman J, Berger JS. Thrombosis in Hospitalized Patients With COVID-19 in a New York City Health System. *JAMA.* 2020 Aug 25;324(8):799-801.

82. Helms J, Tacquard C, Severac F, Leonard-Lorant I, Ohana M, Delabranche X, et al. High risk of thrombosis in patients with severe SARS-CoV-2 infection: a multicenter prospective cohort study. *Intensive Care Med.* 2020 Jun;46(6):1089-1098.
83. Toscano G, Palmerini F, Ravaglia S, Ruiz L, Invernizzi P, Cuzzoni MG, et al. Guillain-Barré Syndrome Associated with SARS-CoV-2. *N Engl J Med.* 2020 Jun 25;382(26):2574-2576.
84. Morris SB, Schwartz NG, Patel P, Abbo L, Beauchamps L, Balan S, et al. Case Series of Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults Associated with SARS-CoV-2 Infection — United Kingdom and United States, March–August 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020 Oct 9;69(40):1450-1456.
85. Feldstein LR, Rose EB, Horwitz SM, Collins JP, Newhams MM, Son MBF, et al. Multisystem Inflammatory Syndrome in U.S. Children and Adolescents. *N Engl J Med.* 2020 Jul 23;383(4):334-346.
86. Verity R, Okell LC, Dorigatti I, Winskill P, Whittaker C, Imai N, et al. Estimates of the severity of coronavirus disease 2019: a model-based analysis. *Lancet Infect Dis.* 2020 Jun;20(6):669-677.
87. Docherty AB, Harrison EM, Green CA, Hardwick HE, Pius R, Norman L, et al. Features of 20 133 UK patients in hospital with covid-19 using the ISARIC WHO Clinical Characterisation Protocol: Prospective observational cohort study. *BMJ.* 2020 May 22;369:m1985.
88. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature.* 2020 Aug;584(7821):430-436.
89. Kragholm K, Andersen MP, Gerds TA, Butt JH, Østergaard L, Polcwiartek C, et al. Association Between Male Sex and Outcomes of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)—A Danish Nationwide, Register-based Study. *Clin Infect Dis.* 2021 Dec 6;73(11):e4025-e4030.
90. Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, Radziszewska A, Ciurtin C, Wedderburn LR, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. *Nat Commun.* 2020 Dec 9;11(1):6317.
91. Price-Haywood EG, Burton J, Fort D, Seoane L. Hospitalization and Mortality among Black Patients and White Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2020 Jun 25;382(26):2534-2543.

92. Escobar GJ, Adams AS, Liu VX, Soltesz L, Chen YFI, Parodi SM, et al. Racial Disparities in COVID-19 Testing and Outcomes : Retrospective Cohort Study in an Integrated Health System. *Ann Intern Med.* 2021 Jun;174(6):786-793.
93. Riedel PG, Sakai VF, Toniasso S de CC, Brum MCB, Fernandes FS, Pereira RM, et al. Heart failure secondary to myocarditis after SARS-CoV-2 reinfection: a case report. *Int J Infect Dis.* 2021 Dec;113:175-177.
94. Puntmann VO, Carerj ML, Wieters I, Fahim M, Arendt C, Hoffmann J, et al. Outcomes of Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging in Patients Recently Recovered from Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *JAMA Cardiol.* 2020 Nov 1;5(11):1265-1273.
95. Huang Y, Tan C, Wu J, Chen M, Wang Z, Luo L, et al. Impact of coronavirus disease 2019 on pulmonary function in early convalescence phase. *Respir Res.* 2020 Jun 29;21(1):163.
96. Gentile F, Aimo A, Forfori F, Catapano G, Clemente A, Cademartiri F, et al. COVID-19 and risk of pulmonary fibrosis: the importance of planning ahead. *Eur J Prev Cardiol.* 2020 Sep;27(13):1442-1446.
97. Huang C, Huang L, Wang Y, Li X, Ren L, Gu X, et al. 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *Lancet.* 2021 Jan 16;397(10270):220-232.
98. Ioannidis JPA. Reconciling estimates of global spread and infection fatality rates of COVID-19: An overview of systematic evaluations. *Eur J Clin Invest.* 2021 May;51(5):e13554.
99. Rajgor DD, Lee MH, Archuleta S, Bagdasarian N, Quek SC. The many estimates of the COVID-19 case fatality rate. *Lancet Infect Dis.* 2020 Jul;20(7):776-777.
100. Meyerowitz-Katz G, Merone L. A systematic review and meta-analysis of published research data on COVID-19 infection fatality rates. *Int J Infect Dis.* 2020 Dec;101:138-148.
101. Levin AT, Hanage WP, Owusu-Boaitey N, Cochran KB, Walsh SP, Meyerowitz-Katz G. Assessing the age specificity of infection fatality rates for COVID-19: systematic review, meta-analysis, and public policy implications. *Eur J Epidemiol.* 2020 Dec;35(12):1123-1138.
102. Biccard BM, Gopalan PD, Miller M, Mitchell WL, Thomson D, Ademuyiwa A, et al. Patient care and clinical outcomes for patients with COVID-19 infection admitted to African high-care or intensive care units (ACCCOS): a multicentre, prospective, observational cohort study. *Lancet.* 2021 May 22;397(10288):1885-1894.

103. Dong E, Du H, Gardner L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect Dis.* 2020 Sep;20(9):e215.
104. Nalla AK, Casto AM, Casto AM, Huang MLW, Perchetti GA, Sampoleo R, et al. Comparative performance of SARS-CoV-2 detection assays using seven different primer-probe sets and one assay kit. *J Clin Microbiol.* 2020 May 26;58(6):e00557-20.
105. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020 Jan;25(3):2000045.
106. van Kasteren PB, van der Veer B, van den Brink S, Wijsman L, de Jonge J, van den Brandt A, et al. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol.* 2020 Jul;128:104412.
107. Arevalo-Rodriguez I, Buitrago-Garcia D, Simancas-Racines D, Zambrano-Achig P, Campo R Del, Ciapponi A, et al. False-negative results of initial RT-PCR assays for COVID-19: A systematic review. *PLoS One.* 2020 Dec 10;15(12):e0242958.
108. Wikramaratna PS, Paton RS, Ghafari M, Lourenço J. Estimating the false-negative test probability of SARSCoV- 2 by RT-PCR. *Eurosurveillance.* 2020 Dec;25(50):2000568.
109. Kucirka LM, Lauer SA, Laeyendecker O, Boon D, Lessler J. Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Ann Intern Med.* 2020 Aug 18;173(4):262-267.
110. Mallett S, Allen AJ, Graziadio S, Taylor SA, Sakai NS, Green K, et al. At what times during infection is SARS-CoV-2 detectable and no longer detectable using RT-PCR-based tests? A systematic review of individual participant data. *BMC Med.* 2020 Nov 4;18(1):346.
111. Machado BAS, Hodel KVS, Barbosa-Júnior VG, Soares MBP, Badaró R. The Main Molecular and Serological Methods for Diagnosing COVID-19: An Overview Based on the Literature. *Viruses.* 2020 Dec 29;13(1):40.
112. Watson J, Whiting PF, Brush JE. Interpreting a covid-19 test result. *BMJ.* 2020 May 12;369:m1808.
113. West CP, Montori VM, Sampathkumar P. COVID-19 Testing: The Threat of False-Negative Results. *Mayo Clin Proc.* 2020 Jun;95(6):1127-1129.

114. Huang P, Liu T, Huang L, Liu H, Lei M, Xu W, et al. Use of Chest CT in Combination with Negative RT-PCR Assay for the 2019 Novel Coronavirus but High Clinical Suspicion. *Radiology*. 2020 Apr;295(1):22-23.
115. Fisher B, Seese L, Sultan I, Kilic A. The importance of repeat testing in detecting coronavirus disease 2019 (COVID-19) in a coronary artery bypass grafting patient. *J Card Surg*. 2020 Jun;35(6):1342-1344.
116. Valan AB, Sture C. Negative nasopharyngeal swabs early in the course of COVID-19. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2020 May 11;140(9).
117. Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, et al. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E115-E117.
118. Xie X, Zhong Z, Zhao W, Zheng C, Wang F, Liu J. Chest CT for Typical Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pneumonia: Relationship to Negative RT-PCR Testing. *Radiology*. 2020 Aug;296(2):E41-E45.
119. Kang Z, Li X, Zhou S. Recommendation of low-dose CT in the detection and management of COVID-2019. *Eur Radiol*. 2020 Aug;30(8):4356-4357.
120. Sewell HF, Agius RM, Stewart M, Kendrick D. Cellular immune responses to covid-19. *BMJ*. 2020 Jul 31;370:m3018.
121. Taefehshokr N, Taefehshokr S, Heit B. Mechanisms of Dysregulated Humoral and Cellular Immunity by SARS-CoV-2. *Pathog (Basel, Switzerland)*. 2020 Dec 8;9(12):1027.
122. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021 Feb 5;371(6529):eabf4063.
123. Assis R, Jain A, Nakajima R, Jasinskas A, Khan S, Palma A, et al. Distinct SARS-CoV-2 antibody reactivity patterns elicited by natural infection and mRNA vaccination. *NPJ Vaccines*. 2021 Nov 4;6(1):132.
124. Tangye SG, Tarlinton DM. Memory B cells: Effectors of long-lived immune responses. *Eur J Immunol*. 2009 Aug;39(8):2065-75.
125. Sette A, Crotty S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19. *Cell*. 2021 Feb 18;184(4):861-880.

126. Carsetti R, Zaffina S, Piano Mortari E, Terreri S, Corrente F, Capponi C, et al. Different Innate and Adaptive Immune Responses to SARS-CoV-2 Infection of Asymptomatic, Mild, and Severe Cases. *Front Immunol.* 2020 Dec 16;11:610300.
127. Shang J, Ye G, Shi K, Wan Y, Luo C, Aihara H, et al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. *Nature.* 020 May;581(7807):221-224.
128. Duan L, Zheng Q, Zhang H, Niu Y, Lou Y, Wang H. The SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein Biosynthesis, Structure, Function, and Antigenicity: Implications for the Design of Spike-Based Vaccine Immunogens. *Front Immunol.* 2020 Oct 7;11:576622.
129. McAndrews KM, Dowlatshahi DP, Dai J, Becker LM, Hensel J, Snowden LM, et al. Heterogeneous antibodies against SARS-CoV-2 spike receptor binding domain and nucleocapsid with implications for COVID-19 immunity. *JCI Insight.* 2020 Sep 17;5(18):e142386.
130. Meyer B, Drosten C, Müller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: Challenges and pitfalls. *Virus Res.* 2014 Dec 19;194:175-83.
131. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Wu GC, Deng K, Chen YK, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020 Jun;26(6):845-848.
132. Krajewski R, Gołębiowska J, Makuch S, Mazur G, Agrawal S. Update on serologic testing in COVID-19. *Clin Chim Acta.* 2020 Nov;510:746-750.
133. Stephens DS, McElrath MJ. COVID-19 and the Path to Immunity. *JAMA.* 2020 Oct 6;324(13):1279-1281.
134. Suthar MS, Zimmerman MG, Kauffman RC, Mantus G, Linderman SL, Hudson WH, et al. Rapid Generation of Neutralizing Antibody Responses in COVID-19 Patients. *Cell reports Med.* 2020 Jun 23;1(3):100040.
135. Bruni M, Cecatiello V, Diaz-Basabe A, Lattanzi G, Mileti E, Monzani S, et al. Persistence of Anti-SARS-CoV-2 Antibodies in Non-Hospitalized COVID-19 Convalescent Health Care Workers. *J Clin Med.* 2020 Oct 1;9(10):3188.
136. Crawford KHD, Dingens AS, Eguia R, Wolf CR, Wilcox N, Logue JK, et al. Dynamics of Neutralizing Antibody Titers in the Months after Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection. *J Infect Dis.* 2021 Feb 3;223(2):197-205.

137. Gerhards C, Thiaucourt M, Kittel M, Becker C, Ast V, Hetjens M, et al. Longitudinal assessment of anti-SARS-CoV-2 antibody dynamics and clinical features following convalescence from a COVID-19 infection. *Int J Infect Dis.* 2021 Jun;107:221-227.
138. RECOVERY Collaborative Group, Horby P, Lim WS, Emberson JR, Mafham M, Bell JL, et al. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *N Engl J Med.* 2021 Feb 25;384(8):693-704.
139. Figueiredo-Campos P, Blankenhaus B, Mota C, Gomes A, Serrano M, Ariotti S, et al. Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset. *Eur J Immunol.* 2020 Dec;50(12):2025-2040.
140. Piccoli L, Park YJ, Tortorici MA, Czudnochowski N, Walls AC, Beltramello M, et al. Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. *Cell.* 2020 Nov 12;183(4):1024-1042.e21.
141. Okba NMA, Müller MA, Li W, Wang C, GeurtsvanKessel CH, Corman VM, et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2-Specific Antibody Responses in Coronavirus Disease Patients. *Emerg Infect Dis.* 2020 Jul;26(7):1478-1488.
142. Robbiani DF, Gaebler C, Muecksch F, Lorenzi JCC, Wang Z, Cho A, et al. Convergent antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent individuals. *Nature.* 2020 Aug;584(7821):437-442.
143. Pan Y, Jiang X, Yang L, Chen L, Zeng X, Liu G, et al. SARS-CoV-2-specific immune response in COVID-19 convalescent individuals. *Signal Transduct Target Ther.* 2021 Jul 30;6(1):293.
144. Legros V, Denolly S, Vogrig M, Boson B, Siret E, Rigail J, et al. A longitudinal study of SARS-CoV-2-infected patients reveals a high correlation between neutralizing antibodies and COVID-19 severity. *Cell Mol Immunol.* 2021 Feb;18(2):318-327.
145. Planas D, Veyer D, Baidaliuk A, Staropoli I, Guivel-Benhassine F, Rajah MM, et al. Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. *Nature.* 2021 Aug;596(7871):276-280.
146. Xiang T, Liang B, Fang Y, Lu S, Li S, Wang H, et al. Declining Levels of Neutralizing Antibodies Against SARS-CoV-2 in Convalescent COVID-19 Patients One Year Post Symptom Onset. *Front Immunol.* 2021 Jun 16;12:708523.

147. Sakharkar M, Rappazzo G, Wieland-Alter WF, Hsieh CL, Wrapp D, Esterman ES, et al. Prolonged evolution of the human B cell response to SARS-CoV-2 infection. *Sci Immunol*. 2021 Feb 23;6(56):eabg6916.
148. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020 Aug 15;396(10249):467-478.
149. Ramasamy MN, Minassian AM, Ewer KJ, Flaxman AL, Folegatti PM, Owens DR, et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): a single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet*. 2021 Dec 19;396(10267):1979-1993.
150. Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, 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. *Lancet*. 2021 Jan 9;397(10269):99-111.
151. Zhang Y, Zeng G, Pan H, Li C, Hu Y, Chu K, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18–59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis*. 2021 Feb;21(2):181-192.
152. Gao Q, Bao L, Mao H, Wang L, Xu K, Yang M, et al. Development of an inactivated vaccine candidate for SARS-CoV-2. *Science*. 2020 Jul 3;369(6499):77-81.
153. Toniasso S de CC, Fernandes FS, Joveleviths D, Filho FFD, Takahasi AY, Baldin CP, et al. Reduction in COVID-19 prevalence in healthcare workers in a university hospital in southern Brazil after the start of vaccination. *Int J Infect Dis*. 2021 Aug;109:283-285.
154. Tanne JH. Covid-19: US cases are greatly underestimated, seroprevalence studies suggest. *BMJ*. 2020 Jul 24;370:m2988.
155. Koopmans M, Haagmans B. Assessing the extent of SARS-CoV-2 circulation through serological studies. *Nat Med*. 2020 Aug;26(8):1171-1172.
156. Li R, Pei S, Chen B, Song Y, Zhang T, Yang W, et al. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). *Science*. 2020 May 1;368(6490):489-493.

157. Iversen K, Kristensen JH, Hasselbalch RB, Pries-Heje M, Nielsen PB, Knudsen AD, et al. Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies and reduced risk of reinfection through 6 months: a Danish observational cohort study of 44 000 healthcare workers. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Sep 17:S1198-743X(21)00495-X.
158. Röltgen K, Powell AE, Wirz OF, Stevens BA, Hogan CA, Najeeb J, et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Sci Immunol.* 2020 Dec 7;5(54):eabe0240.
159. Glöckner S, Hornung F, Baier M, Weis S, Pletz MW, Deinhardt-Emmer S, et al. Robust Neutralizing Antibody Levels Detected after Either SARS-CoV-2 Vaccination or One Year after Infection. *Viruses.* 2021 Oct 5;13(10):2003.
160. Alzaabi AH, Ahmed LA, Rabooy AE, Zaabi A Al, Alkaabi M, AlMahmoud F, et al. Longitudinal changes in IgG levels among COVID-19 recovered patients: A prospective cohort study. *PLoS One.* 2021 Jun 11;16(6):e0251159.
161. Manalac J, Yee J, Calayag K, Nguyen L, Patel PM, Zhou D, et al. Evaluation of Abbott anti-SARS-CoV-2 CMIA IgG and Euroimmun ELISA IgG/IgA assays in a clinical lab. *Clin Chim Acta.* 2020 Nov;510:687-690.
162. Bryan A, Pepper G, Wener MH, Fink SL, Morishima C, Chaudhary A, et al. Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *J Clin Microbiol.* 2020 Jul 23;58(8):e00941-20.
163. Jin Y, Wang M, Zuo Z, Fan C, Ye F, Cai Z, et al. Diagnostic value and dynamic variance of serum antibody in coronavirus disease 2019. *Int J Infect Dis.* 2020 May;94:49-52.
164. Achiron A, Gurevich M, Falb R, Dreyer-Alster S, Sonis P, Mandel M. SARS-CoV-2 antibody dynamics and B-cell memory response over time in COVID-19 convalescent subjects. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Sep;27(9):1349.e1-1349.e6.
165. Lumley SF, Wei J, O'Donnell D, Stoesser NE, Matthews PC, Howarth A, et al. The Duration, Dynamics, and Determinants of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Antibody Responses in Individual Healthcare Workers. *Clin Infect Dis.* 2021 Aug 2;73(3):e699-e709.
166. Bal A, Trabaud M, Fassier J, Rabilloud M, Saker K, Langlois-Jacques C, et al. Six-month antibody response to SARS-CoV-2 in healthcare workers assessed by virus neutralization and commercial assays. *Clin Microbiol Infect.* 2021 Jun;27(6):933-935.

167. Moriyama S, Adachi Y, Sato T, Tonouchi K, Sun L, Fukushi S, et al. Temporal maturation of neutralizing antibodies in COVID-19 convalescent individuals improves potency and breadth to circulating SARS-CoV-2 variants. *Immunity*. 2021 Aug 10;54(8):1841-1852.e4.
168. Noh JY, Kwak JE, Yang JS, Hwang SY, Yoon JG, Seong H, et al. Longitudinal Assessment of Antisevere Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Immune Responses for Six Months Based on the Clinical Severity of Coronavirus Disease 2019. *J Infect Dis*. 2021 Sep 1;224(5):754-763.
169. Masiá M, Fernández-González M, Telenti G, Agulló V, García JA, Padilla S, et al. Durable antibody response one year after hospitalization for COVID-19: A longitudinal cohort study. *J Autoimmun*. 2021 Sep;123:102703.
170. Kiefer MK, Allen KD, Russo JR, Ma'ayeh M, Gee SE, Kniss D, et al. Decline in Sars-CoV-2 antibodies over 6-month follow-up in obstetrical healthcare workers. *Am J Reprod Immunol*. 2021 Dec;86(6):e13490.
171. Liu C, Yu X, Gao C, Zhang L, Zhai H, Hu Y, et al. Characterization of antibody responses to SARS-CoV-2 in convalescent COVID-19 patients. *J Med Virol*. 2021 Apr;93(4):2227-2233.
172. Zheng Y, Zhang Q, Ali A, Li K, Shao N, Zhou X, et al. Sustainability of SARS-CoV-2 Induced Humoral Immune Responses in COVID-19 Patients from Hospitalization to Convalescence Over Six Months. *Virol Sin*. 2021 Oct;36(5):869-878.
173. L'Huillier AG, Meyer B, Andrey DO, Arm-Vernez I, Baggio S, Didierlaurent A, et al. Antibody persistence in the first 6 months following SARS-CoV-2 infection among hospital workers: a prospective longitudinal study. *Clin Microbiol Infect*. 2021 Jan 20;27(5):784.e1-8.
174. Van Elslande J, Oyaert M, Ailliet S, Van Ranst M, Lorent N, Vande Weygaerde Y, et al. Longitudinal follow-up of IgG anti-nucleocapsid antibodies in SARS-CoV-2 infected patients up to eight months after infection. *J Clin Virol*. 2021 Mar;136:104765.
175. He Z, Ren L, Yang J, Guo L, Feng L, Ma C, et al. Seroprevalence and humoral immune durability of anti-SARS-CoV-2 antibodies in Wuhan, China: a longitudinal, population-level, cross-sectional study. *Lancet*. 2021 Mar 20;397(10279):1075-1084.
176. Tomassetti F, Nuccetelli M, Sarubbi S, Gisone F, Ciotti M, Spinazzola F, et al. Evaluation of S-RBD and high specificity ACE-2-binding antibodies on SARS-CoV-2 patients after six months from infection. *Int Immunopharmacol*. 2021 Oct;99:108013.

177. Zhang J, Lin H, Ye B, Zhao M, Zhan J, Dong S, et al. One-year sustained cellular and humoral immunities of COVID-19 convalescents. *Clin Infect Dis*. 2021 Oct 5:ciab884.
178. Löfström E, Eringfält A, Kötzer A, Wickbom F, Tham J, Lingman M, et al. Dynamics of IgG-avidity and antibody levels after Covid-19. *J Clin Virol*. 2021 Nov;144:104986.
179. Vanshylla K, Di Cristanziano V, Kleipass F, Dewald F, Schommers P, Gieselmann L, et al. Kinetics and correlates of the neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans. *Cell Host Microbe*. 2021 Jun 9;29(6):917-929.e4.
180. De Giorgi V, West KA, Henning AN, Chen LN, Holbrook MR, Gross R, et al. Naturally Acquired SARS-CoV-2 Immunity Persists for Up to 11 Months Following Infection. *J Infect Dis*. 2021 Oct 28;224(8):1294-1304.
181. Varona JF, Madurga R, Peñalver F, Abarca E, Almirall C, Cruz M, et al. kinetics of anti-SARS-CoV-2 antibodies over time. Results of 10 month follow up in over 300 seropositive Health Care Workers. *Eur J Intern Med*. 2021 Jul;89:97-103.
182. Wang H, Yuan Y, Xiao M, Chen L, Zhao Y, Haiwei Zhang, et al. Dynamics of the SARS-CoV-2 antibody response up to 10 months after infection. *Cell Mol Immunol*. 2021 Jul;18(7):1832-1834.
183. Dehgani-Mobaraki P, Kamber Zaidi A, Porreca A, Floridi A, Floridi E, Monti M, et al. Antibody persistency and trend post-SARS-CoV-2 infection at eight months. *Ann Ig*. 2022 Jan-Feb;34(1):1-12.
184. Dehgani-Mobaraki P, Zaidi AK, Yadav N, Floridi A, Floridi E. Longitudinal observation of antibody responses for 14 months after SARS-CoV-2 infection. *Clin Immunol*. 2021 Sep;230:108814.
185. Grandjean L, Saso A, Ortiz AT, Lam T, Hatcher J, Thistlethwayte R, et al. Long-Term Persistence of Spike Antibody and Predictive Modeling of Antibody Dynamics Following Infection with SARS-CoV-2. *Clin Infect Dis*. 2021 Jul 4:ciab607.
186. Peghin M, De Martino M, Fabris M, Palese A, Visintini E, Graziano E, et al. The Fall in Antibody Response to SARS-CoV-2: a Longitudinal Study of Asymptomatic to Critically Ill Patients Up to 10 Months after Recovery. *J Clin Microbiol*. 2021 Oct 19;59(11):e0113821.

187. Aubry A, Demey B, François C, Duverlie G, Castelain S, Helle F, et al. Longitudinal Analysis and Comparison of Six Serological Assays up to Eight Months Post-COVID-19 Diagnosis. *J Clin Med*. 2021 Apr 21;10(9):1815.
188. Bond KA, Williams E, Nicholson S, Lim S, Johnson D, Cox B, et al. Longitudinal evaluation of laboratory-based serological assays for SARS-CoV-2 antibody detection. *Pathology*. 2021 Oct;53(6):773-779.
189. Gallais F, Gantner P, Bruel T, Velay A, Planas D, Wendling MJ, et al. Evolution of antibody responses up to 13 months after SARS-CoV-2 infection and risk of reinfection. *EbioMedicine*. 2021 Sep;71:103561.
190. Wu J, Liang B, Chen C, Wang H, Fang Y, Shen S, et al. SARS-CoV-2 infection induces sustained humoral immune responses in convalescent patients following symptomatic COVID-19. *Nat Commun*. 2021 Mar 22;12(1):1813.
191. Bylicki O, Delarbre D, Mayet A, Ferrier A, Perisse A, Malle C, et al. Neutralizing antibody response to SARS-CoV-2 persists 9 months post symptom onset in mild and asymptomatic patients. *Int J Infect Dis*. 2021 Nov;112:8-12.
192. Harris RJ, Whitaker HJ, Andrews NJ, Aiano F, Amin-Chowdhury Z, Flood J, et al. Serological surveillance of SARS-CoV-2: Six-month trends and antibody response in a cohort of public health workers. *J Infect*. 2021 May;82(5):162-169.
193. Li C, Yu D, Wu X, Liang H, Zhou Z, Xie Y, et al. Twelve-month specific IgG response to SARS-CoV-2 receptor-binding domain among COVID-19 convalescent plasma donors in Wuhan. *Nat Commun*. 2021 Jul 6;12(1):4144.
194. García-Abellán J, Padilla S, Fernández-González M, García JA, Agulló V, Andreo M, et al. Antibody Response to SARS-CoV-2 is Associated with Long-term Clinical Outcome in Patients with COVID-19: a Longitudinal Study. *J Clin Immunol*. 2021 Oct;41(7):1490-1501.
195. Iacobucci G. Covid-19: Doctors sound alarm over hospital transmissions. *BMJ*. 2020 May 19;369:m2013.
196. Wang J, Zhou M, Liu F. Reasons for healthcare workers becoming infected with novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) in China. *J Hosp Infect*. 2020 May;105(1):100-101.
197. Lahner E, Dilaghi E, Prestigiacomo C, Alessio G, Marcellini L, Simmaco M, et al. Prevalence of Sars-Cov-2 infection in health workers (HWs) and diagnostic test

- performance: the experience of a teaching hospital in central Italy. *Int J Environ Res Public Health*. 2020 Jun 19;17(12):4417.
198. Contejean A, Leporrier J, Canouï E, Alby-Laurent F, Lafont E, Beaudeau L, et al. Comparing Dynamics and Determinants of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Transmissions Among Healthcare Workers of Adult and Pediatric Settings in Central Paris. *Clin Infect Dis*. 2021 Jan 27;72(2):257-264.
 199. Misra-Hebert AD, Jehi L, Ji X, Nowacki AS, Gordon S, Terpeluk P, et al. Impact of the COVID-19 Pandemic on Healthcare Workers' Risk of Infection and Outcomes in a Large, Integrated Health System. *J Gen Intern Med*. 2020 Nov;35(11):3293-3301.
 200. Chow EJ, Schwartz NG, Tobolowsky FA, Zacks RLT, Huntington-Frazier M, Reddy SC, et al. Symptom Screening at Illness Onset of Health Care Personnel With SARS-CoV-2 Infection in King County, Washington. *Jama*. 2020 May 26;323(20):2087-2089.
 201. Leeds JS, Raviprakash V, Jacques T, Scanlon N, Cundall J, Leeds CM. Risk factors for detection of SARS-CoV-2 in healthcare workers during April 2020 in a UK hospital testing programme. *EclinicalMedicine*. 2020 Sep;26:100513.
 202. Howard-Anderson J, Adams C, Sherman AC, Dube WC, Smith TC, Edupuganti N, et al. Occupational Risk Factors for SARS-CoV-2 Infection among Healthcare Personnel: A Cross-Sectional Analysis of Subjects Enrolled in the COPE Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021 Feb 9:1-6.
 203. Lentz RJ, Colt H, Chen H, Cordovilla R, Popevic S, Tahura S, et al. Assessing COVID-19 Transmission to Healthcare Personnel: The Global ACT-HCP Case-Control Study. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2021 Apr;42(4):381-387.
 204. The Lancet. COVID-19: protecting health-care workers. *Lancet*. 2020 Mar 21;395(10228):922.
 205. Verbeek JH, Rajamaki B, Ijaz S, Sauni R, Toomey E, Blackwood B, et al. Personal protective equipment for preventing highly infectious diseases due to exposure to contaminated body fluids in healthcare staff. *Cochrane database Syst Rev*. 2020 May 15;5:CD011621.
 206. Khalil MM, Alam MM, Arefin MK, Chowdhury MR, Huq MR, Chowdhury JA, et al. Role of Personal Protective Measures in Prevention of COVID-19 Spread Among Physicians in Bangladesh: a Multicenter Cross-Sectional Comparative Study. *SN Compr Clin Med*. 2020 Aug 28:1-7.

207. Liu M, Cheng SZ, Xu KW, Yang Y, Zhu QT, Zhang H, et al. Use of personal protective equipment against coronavirus disease 2019 by healthcare professionals in Wuhan, China: Cross sectional study. *BMJ*. 2020 Jun 10;369:m2195.
208. Walker J, Fleece ME, Griffin RL, Leal SM, Alsip JA, Stigler WS, et al. Decreasing High-risk Exposures for Healthcare Workers Through Universal Masking and Universal Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Testing on Entry to a Tertiary Care Facility. *Clin Infect Dis*. 2021 Nov 2;73(9):e3113-e3115.
209. Meredith LW, Hamilton WL, Warne B, Houldcroft CJ, Hosmillo M, Jahun AS, et al. Rapid implementation of SARS-CoV-2 sequencing to investigate cases of health-care associated COVID-19: a prospective genomic surveillance study. *Lancet Infect Dis*. 2020 Nov;20(11):1263-1272.
210. Jones NK, Rivett L, Sparkes D, Forrest S, Sridhar S, Young J, et al. Effective control of SARS-CoV-2 transmission between healthcare workers during a period of diminished community prevalence of COVID-19. *Elife*. 2020 Jun 19;9:e59391.
211. Nagesh S, Chakraborty S. Saving the frontline health workforce amidst the COVID-19 crisis: Challenges and recommendations. *J Glob Health*. 2020 Jun;10(1):010345.
212. Zhang Z, Liu S, Xiang M, Li S, Zhao D, Huang C, et al. Protecting healthcare personnel from 2019-nCoV infection risks: lessons and suggestions. *Front Med*. 2020 Apr;14(2):229-231.
213. Demartini K, Konzen V de M, Siqueira M de O, Garcia G, Jorge MSG, Batista JS, et al. Care for frontline health care workers in times of covid-19. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53:e20200358.
214. Centers for Disease Control and Prevention. Underlying medical conditions associated with high risk for severe COVID-19: Information for healthcare providers. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html>
215. Centers for Disease Control and Prevention. Science brief: Evidence used to update the list of underlying medical conditions that increase a person's risk of severe illness from COVID-19. Available at: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlying-evidence-table.html>
216. <https://www.arcgis.com/apps/dashboards/bda7594740fd40299423467b48e9ecf6>

217. https://qsprod.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html

7. ARTIGO

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo avaliou profissionais de saúde de centro terciário que atua como referência no tratamento de casos de COVID-19 no estado do Rio Grande do Sul, população com alta exposição ao vírus SARS-CoV-2, não tendo sido feita restrição quanto à presença de comorbidades, tipo de local de trabalho ou de atividade profissional exercida. Os critérios de inclusão restringiram os sujeitos quanto ao tempo transcorrido após a infecção, tendo sido avaliados apenas indivíduo com história de infecção por COVID-19 há 6 meses ou mais. Ademais, a seleção final resultou em amostra composta predominantemente por mulheres jovens com baixa prevalência de comorbidades e episódio prévio de COVID-19 considerado leve quando utilizado critério de necessidade de internação hospitalar como marcador de gravidade.

A baixa taxa de detecção de anticorpos IgG na população em estudo indica que estudos de soroprevalência podem incorrer em importante subestimação do grau de exposição e infecção prévia por SARS-CoV-2. Fatores intrínsecos ao teste de imunoenensaio quimioluminescente por micropartículas disponibilizado pela empresa Abbott utilizado no trabalho, assim como características próprias dos indivíduos estudados, podem ter contribuído para esse resultado.

Embora a positividade de IgM em períodos prolongados após a infecção por COVID-19 seja reportada na literatura como ocorrendo em menor frequência do que a de IgG, nossos resultados demonstraram taxa de positividade semelhante para ambos os anticorpos em período de 6 meses ou mais após a infecção, porém com baixa correlação entre eles. A diferença antigênica dos anticorpos avaliados é fator importante para esse resultado. Independentemente, a detecção de IgM em parcela significativa de indivíduos e a fraca correlação com IgG indicam que o uso do teste sorológico avaliado neste estudo como marcador de infecção recente pode ser inadequado.

Fatores associados à presença de sorologia positiva, como história de hospitalização por COVID-19, maior idade e maior IMC, assemelham-se aos demonstrados em outros trabalhos identificados em revisão da literatura, o que indica convergência do entendimento acerca desses fatores. Além disso, a mensuração, por meio do cálculo da razão de prevalência, da associação negativa entre o tempo para a realização do teste sorológico após a infecção por COVID-19 e a taxa de positividade do teste auxilia no entendimento a respeito de como interpretar a informação trazida pelo do teste quando aplicado em diferentes momentos após a infecção.

Uma limitação do estudo foi a realização de vacina anti SARS-CoV-2 antes da dosagem do teste sorológico. A aplicação de uma dose de vacina foi associada a maior prevalência de teste IgG positivo, mas não de IgM, refletindo o estímulo à imunidade adquirida após o episódio infeccioso

no passado. Essa associação foi considerada nos modelos multivariados que avaliaram fatores associados a teste sorológico positivo.

Os resultados do nosso trabalho contribuem para o entendimento acerca do uso de teste sorológico específico para identificação de exposição prévia a SARS-CoV-2. Os dados aqui apresentados podem contribuir para que gestores de instituições com características semelhantes estruturem mecanismos de controle de infecção nosocomial entre suas equipes de trabalho. Com relação à aplicação de testes sorológicos, particularmente o avaliado neste estudo, seu uso deve ser planejado com atenção para que a tomada de decisão não se baseie inadvertidamente em informação equivocada.

9. PERSPECTIVAS FUTURAS

Os resultados aqui apresentados contribuem para o entendimento a respeito dos resultados de estudos de soroprevalência, mas não respondem a todas as questões pertinentes ao tema. A comparação e combinação com os resultados de outros trabalhos, como em revisões sistemáticas e meta-análises, poderá ampliar o conhecimento sobre o uso de testes sorológicos para identificação de infecção prévia por COVID-19.

Outro ponto a ser explorado é a relação entre presença de anticorpos após infecção natural, vacinação, e risco para reinfecção por COVID-19. A avaliação da presença anticorpos pode apontar qual o melhor momento após a infecção por COVID-19 em que seja mais acertada a aplicação de vacina contra SARS-CoV-2? Ou o número de doses a conferir imunidade de maior duração?

Muitas questões ainda existem dentro do universo envolvendo COVID-19 e seus desdobramentos. Contribuir na busca por respostas que contribuam de maneira construtiva para a sociedade deve ser a força motriz para as pesquisas na área.

STROBE Checklist para estudos transversais

	Item No	Recommendation	Presença (Página)
Title and abstract	1	(a) Indicate the study's design with a commonly used term in the title or the abstract	X (58)
		(b) Provide in the abstract an informative and balanced summary of what was done and what was found	X (58-59)
Introduction			
Background/ rationale	2	Explain the scientific background and rationale for the investigation being reported	X (59-60)
Objectives	3	State specific objectives, including any prespecified hypotheses	X (60)
Methods			
Study design	4	Present key elements of study design early in the paper	X (60-61)
Setting	5	Describe the setting, locations, and relevant dates, including periods of recruitment, exposure, follow-up, and data collection	X (60)
Participants	6	(a) <i>Cohort study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants. Describe methods of follow-up <i>Case-control study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of case ascertainment and control selection. Give the rationale for the choice of cases and controls <i>Cross-sectional study</i> —Give the eligibility criteria, and the sources and methods of selection of participants	X (60-61)
		(b) <i>Cohort study</i> —For matched studies, give matching criteria and number of exposed and unexposed <i>Case-control study</i> —For matched studies, give matching criteria and the number of controls per case	NA
Variables	7	Clearly define all outcomes, exposures, predictors, potential confounders, and effect modifiers. Give diagnostic criteria, if applicable	X (61)
Data sources/ measurement	8*	For each variable of interest, give sources of data and details of methods of assessment (measurement). Describe comparability of assessment methods if there is more than one group	X (61)
Bias	9	Describe any efforts to address potential sources of bias	X (61-62)
Study size	10	Explain how the study size was arrived at	X (61)

Quantitative variables	11	Explain how quantitative variables were handled in the analyses. If applicable, describe which groupings were chosen and why	X (61-62)
Statistical methods	12	(a) Describe all statistical methods, including those used to control for confounding	X (61-62)
		(b) Describe any methods used to examine subgroups and interactions	X (61-62)
		(c) Explain how missing data were addressed	X (62)
		(d) <i>Cohort study</i> —If applicable, explain how loss to follow-up was addressed <i>Case-control study</i> —If applicable, explain how matching of cases and controls was addressed <i>Cross-sectional study</i> —If applicable, describe analytical methods taking account of sampling strategy	X (61-62)
		(e) Describe any sensitivity analyses	X (61-62)

NA, não se aplica