



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Daiane Cabrera Menezes

**ESTUDO GENÉTICO E SOROEPIDEMIOLÓGICO DA
INFECÇÃO POR SARS-COV-2 NO MUNICÍPIO DE
BAURU-SP**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre (a) em Doenças Tropicais.

**Orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Pereira Latini
Coorientadora: Profa. Dra. Vânia Nieto Brito de Souza**

**Botucatu
2022**

Daiane Cabrera Menezes

ESTUDO GENÉTICO E SOROEPIDEMIOLÓGICO DA
INFECÇÃO POR SARS-COV-2 NO MUNICÍPIO DE
BAURU-SP

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Mestre (a) em Doenças Tropicais.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Carla Pereira Latini
Coorientadora: Profa. Dra. Vânia Nieto Brito de Souza

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Menezes, Daiane Cabrera.

Estudo genético e soroepidemiológico da infecção por
SARS-CoV-2 no município de Bauru-SP / Daiane Cabrera
Menezes. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de
Botucatu

Orientador: Ana Carla Pereira Latini

Coorientador: Vânia Nieto Brito de Souza

Capes: 20205007

1. Estudos soroepidemiológicos. 2. Aspectos genéticos.
3. Coronavírus. 4. SARS-CoV-2. 5. COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19; SARS-CoV-2; Transmissão.

*“Querido Deus, te agradeço pelas
bênçãos sem fim e pela
alegria de viver em Tua presença”*

Salmo 21:6

Dedicatória

À DEUS,

Pelos milagres que tem realizado em minha vida, eu te amarei Senhor de todo o meu coração. “Bendito seja Deus, que não rejeitou a minha oração, nem desviou de mim a sua misericórdia” Salmo 66:20

À MINHA FAMÍLIA,

Mãe, seu cuidado e dedicação me deram esperanças para seguir em frente. Eu a agradeço do fundo do meu coração.

Agradecimentos

À Prof^ª. Dr.^ª Ana Carla Pereira Latini, pelo apoio imensurável, competência e eficiência com que conduziu a orientação deste trabalho. Agradeço por todo o ensinamento, paciência, confiança, zelo e cuidado. Sempre vou tê-la como referência e serei eternamente agradecida.

À Prof^ª. Dr.^ª Vânia Nieto Brito de Souza, sou grata pela oportunidade, suporte, confiança e amizade.

Aos colaboradores deste estudo, que auxiliaram todo o processo de desenvolvimento da pesquisa, muito obrigada pela enorme contribuição, pelos conselhos, ensinamentos e pela amizade conquistada.

A todos os pesquisadores do Instituto Lauro de Souza Lima pela agradável convivência e por todo carinho e apoio recebido ao longo do caminho.

Agradecimentos Institucionais

Ao Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais da Universidade Estadual Paulista UNESP/Botucatu.

À Seção Técnica de Pós-Graduação, pela gentileza e atenção de sempre com os alunos.

Ao Instituto Lauro de Souza Lima que viabilizou a execução deste trabalho.

RESUMO

O SARS-COV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) é o vírus causador da COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). O alcance e o impacto negativo do SARS-CoV-2 em todo o mundo, colocam a pandemia causada por ele entre as mais notórias que já foram registradas na história da humanidade. Esse estudo teve por objetivo constituir um biorrepositório e um banco de dados em COVID-19 que possam ser compartilhados para o avanço no entendimento da doença e da sua epidemiologia na cidade de Bauru-SP; além de realizar estudos soropidemiológico e genético em pacientes com COVID-19 residentes em Bauru-SP e seus contatos. Participaram do estudo 974 indivíduos, sendo 233 casos índices e 741 contatos familiares, no período de julho a novembro de 2020. Os contatos foram avaliados por meio do teste rápido COVID-19 Ag ECO Test e/ou RT-PCR logo após o diagnóstico do paciente índice. O uso do teste rápido baseado na detecção de proteínas do SARS-COV-2 foi validado em 121 indivíduos usando RT-PCR como padrão-ouro. Além disso, 30 dias após, os casos e contatos foram avaliados quanto à presença de anticorpos dos tipos IgM e IgG contra o coronavírus. A sensibilidade, especificidade e os valores preditivos positivo e negativo do teste rápido foram de 70,2%, 95,3%, 93,0% e 78,2%, respectivamente, com uma precisão diagnóstica de 83,3%. Foram encontrados 333 casos de COVID-19 entre os contatos familiares (44,9%). Houve uma correlação positiva (1.06; IC: 1.01-1.16) entre o tempo decorrido desde o início dos sintomas até o teste de COVID-19 dos pacientes índice e o número de contatos familiares infectados por SARS-COV-2. Nossos resultados salientam a importância da celeridade no diagnóstico da COVID-19 para contenção da transmissão e demonstram a relevância do contágio intrafamiliar.

Palavras-chaves: COVID-19; SARS-COV-2; Transmissão.

ABSTRACT

COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) is an infectious disease caused by the SARS-COV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2). The spread and harmful impact of SARS-COV-2 across the world has established it among the most notorious pandemics that have ever been recorded in human history. This study aimed to create a biorepository and a database on COVID-19 that can be shared to advance the understanding of the disease and its epidemiology in the city of Bauru-SP; and conduct a seroepidemiological and genetic studies in patients with COVID-19 residing in Bauru-SP and their contacts. The study sample included 974 individuals, with 233 index patients and 741 household contacts, from July to November 2020. Familiar contacts were evaluated by using the rapid test COVID-19 Ag ECO Test or RT-PCR shortly after the positive diagnosis of the index patient. The use of the antigen-based rapid test was validated in 121 individuals using RT-PCR as the gold standard. Furthermore, 30 days later, the index cases and contacts were evaluated for the presence of IgM and IgG antibodies against SARS-COV-2. The sensitivity, specificity, and positive and negative predictive values of the COVID-19 Ag ECO test were found to be 70.2%, 95.3%, 93.0%, and 78.2%, respectively, with a diagnostic accuracy of 83.3%. We found 333 cases of COVID-19 among household contacts (44.9%). A positive correlation (1.06; IC: 1.01-1.16) was observed between the time elapsed from symptoms onset to COVID-19 testing of index patients and the number of household contacts infected by SARS-CoV-2. Our results highlight the importance of early diagnosis of COVID-19 in order to contain dissemination and demonstrate the relevance of intra-family transmission.

Keywords: COVID-19; SARS-COV-2; Transmission.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE2 - *Angiotensin Converting Enzyme-2* (Enzima conversora de angiotensina 2)

CLIA - *Chemiluminescent immunoassay* (Imunoensaio por Quimioluminescência)

COVID-19 - *Coronavirus Disease 2019*(Doença do coronavírus 2019)

DRS-VI – Departamento Regional de Saúde VI

ECLIA - *Electrochemiluminescence immunoassay* (Imunoensaio por Eletroquimioluminescência)

ELISA - *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (Ensaio imunadsorvente ligado à enzima)

IDHM - Índice de desenvolvimento humano municipal

MERS-CoV - *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* (Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio)

OMS – Organização Mundial de Saúde

RT-LAMP - *Reverse transcriptase loop-mediated isothermal amplification* (Amplificação isotérmica mediada por alça de transcriptase reversa)

RT-PCR - *Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa)

RT-qPCR - *Reverse Transcription Real-time Polymerase Chain Reaction* (Reação em cadeia da polimerase quantitativa via transcriptase reversa)

SARS-COV - *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus* (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave)

SARS-COV-2 - *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave-2)

SDRA - Síndrome do desconforto respiratório agudo

SRAG - *Severe Acute Respiratory Syndrome* (Síndrome respiratória aguda grave)

TCAR - Tomografia computadorizada de alta resolução

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA.....	10
1.1 PANDEMIA DE COVID-19.....	10
1.2 BIOLOGIA DOS CORONAVÍRUS.....	12
1.3 PATOGENIA DA COVID-19.....	13
1.4 ESTUDOS SOROEPIDEMIOLÓGICOS E GENÉTICOS.....	17
2. OBJETIVOS.....	22
3. MANUSCRITO.....	23
4. CONCLUSÃO.....	38
REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

1.1 PANDEMIA DE COVID-19

O SARS-COV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*) é o vírus causador da COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*). A doença foi relatada pela primeira vez no município de Wuhan, China, em 31 de dezembro de 2019 e, em 11 de março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) elevou o estado da contaminação à pandemia de COVID-19.¹

O alcance e o impacto negativo do SARS-COV-2 em todo o mundo, colocam a pandemia causada por ele entre as mais notórias que já foram registradas na história da humanidade.² Entre dezembro de 2019 e fevereiro de 2022, o SARS-COV-2 foi responsável por mais de 392 milhões de casos e mais de 5.7 milhões de mortes em todo mundo³ e tem desafiado a comunidade científica mundial.

No Brasil, o primeiro caso confirmado ocorreu em 25 de fevereiro de 2020 e a primeira morte por COVID-19, se deu no mês seguinte.⁴ Até 13 de fevereiro de 2022, foram registrados 27.479.963 casos confirmados e 638.362 óbitos por COVID-19 no país, sendo a taxa de mortalidade de 303,8 por 100 mil habitantes, a taxa de incidência de 13.076,5 por 100 mil habitantes e a taxa de letalidade de 2,3%.⁵ No Estado de São Paulo, até a mesma data, foram 4.844.670 casos e 161.489 óbitos por COVID-19.^{5,6} No início de 2022, as variantes Alpha, Beta, Gamma, Delta e Omicron do SARS-COV-2 continuam a circular e mantêm a ameaça pandêmica constante em vários países, incluindo o Brasil.^{3,7,8,9}

Vários aspectos da pandemia de COVID-19 sugerem a possibilidade de novos eventos como este no futuro². Trata-se da terceira ocorrência de síndrome respiratória aguda grave por coronavírus em menos de 20 anos, após a SARS-COV (*Severe Acute Respiratory Syndrome*) em 2003 e a MERS-COV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) em 2012, ambos induzindo doenças humanas graves¹⁰. A SARS-CoV ocorreu de novembro de 2002 a agosto de 2003, teve início no Sul da China, com o primeiro caso de um coronavírus da variação beta, resultou em prováveis 8.422 casos e 919 óbitos (letalidade: 11%) e se espalhou por 32 países.^{10,11} A MERS-COV se originou na Arábia Saudita em 2012, levando a 2.494 casos da doença e com 858 óbitos (letalidade: 34,4%) em 27 países.^{10,12} Além disso, sabe-se que quatro cepas de coronavírus causam sintomas mais leves do resfriado

comum. Essas incidências, juntamente com a possibilidade de existirem outras infecções por coronavírus que não foram reconhecidas, indicam que a disseminação de novos coronavírus entre populações humanas é um fenômeno relativamente comum.²

Os primeiros casos da COVID-19 foram identificados em indivíduos que frequentavam o Mercado Atacadista de Frutos do Mar de Huanan, na China. Esse mercado é famoso mundialmente pelo comércio de mamíferos selvagens, sendo assim, surgiu a hipótese de que o vírus poderia ter origem zoonótica.¹³

Em 12 de janeiro de 2020, a China compartilhou a sequência genética do agente causador da COVID-19, e a partir de então o SARS-COV-2 teve sua identidade genética conhecida em nível mundial. O vírus se espalhou rapidamente pelo mundo, e com o aumento significativo do número de casos em proporções continentais, em 30 de janeiro de 2020, a OMS reconheceu que a COVID-19 se tornou uma emergência de saúde pública internacional.¹⁴

Existem duas hipóteses para a origem do novo coronavírus: origem zoonótica ou escape do vírus de um laboratório por acidente. Não há evidência que o SARS-COV-2 tenha surgido em laboratório, embora não se possa descartar totalmente essa possibilidade¹⁵. Esta teoria foi embasada no fato da cidade de Wuhan sediar um importante laboratório de virologia com pesquisas envolvendo coronavírus, mas todas as análises apontam para a origem zoonótica do SARS-COV-2.^{2,15} O transbordamento zoonótico, por definição, seleciona vírus capazes de infectar humanos e este é mais um fator para a hipótese zoonótica.

Outro fator que colabora para a origem zoonótica é a análise da história epidemiológica documentada do SARS-COV-2 que é comparável a surtos anteriores de coronavírus associados ao mercado de animais com uma rota simples para exposição humana. Assim, o rastreamento de contatos do SARS-COV-2 nos mercados de Wuhan exibe semelhanças importantes com a disseminação inicial do SARS-COV em 2002 nos mercados de Guangdong.¹⁵ Além disso, análises evolutivas moleculares do genoma de referência do SARS-COV-2 indicam que este se originou de reservatórios de vírus em mamíferos não humanos, como morcegos, por meio de recombinação e seleção.²

Apesar de um novo coronavírus ter sido isolado em pangolins (capturados em Nanning e Guangzhou), e este apresentar elevada identidade genômica com o

causador da COVID-19, com similaridade de 85,3% a 89,7%, a hipótese ainda mais aceita é que o SARS-COV-2 seja oriundo de morcegos. Em comparações moleculares foi verificado que a sequência do genoma do coronavírus isolado de morcegos do gênero *Rhinolophus*, encontrados em diferentes regiões da China apresentou elevada similaridade (de 87% a 96%) com o SARS-COV-2. Sendo assim, este vírus pode ter sofrido um processo evolutivo (no morcego ou em outro hospedeiro) e posteriormente ter sido transmitido para seres humanos. Outra hipótese seria que uma forma não patogênica tenha sido transmitida para seres humanos, com o processo evolutivo ocorrendo apenas no hospedeiro final.^{2,13,15,43}

1.2 BIOLOGIA DOS CORONAVÍRUS

Os vírus são formados por duas estruturas básicas que, juntas, formam o nucleocapsídeo: o core (parte central), onde está presente o material genético (DNA ou RNA), e uma capa proteica, o capsídeo. Alguns gêneros podem ser formados exclusivamente pelo nucleocapsídeo e outros podem apresentar uma membrana externa, o envelope, sendo este uma membrana fosfolipídica com o intuito de conferir uma proteção extra ao vírus, além de auxiliá-lo no processo de infecção celular.¹³

Os coronavírus são vírus de RNA de fita simples, esféricos, revestidos por um envelope lipoproteico e possuem cerca de 125nm de diâmetro. O SARS-CoV-2 possui quatro proteínas estruturais: envelope (proteína E), membrana (proteína M), espícula ou spike (proteína S) e nucleocapsídeo (proteína N), sendo estas relacionadas à regulação de função e estrutura viral. A proteína N auxilia na formação do capsídeo e de toda a estrutura viral enquanto a proteína S está diretamente relacionada ao processo de adesão e penetração nas células do hospedeiro. A proteína S se arranja em trímeros que se projetam na membrana em forma de espículas e confere um aspecto de coroa ao vírus, de onde deriva o nome *corona*.^{13,16}

A infecção celular pelo SARS-COV-2 se dá através da ligação da proteína S a um receptor enzimático, a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) presente na superfície de células humanas. O material genético (RNA viral) é liberado no interior da célula no momento em que há a fusão do vírus à membrana, e esta, uma vez infectada, começa a fabricar proteínas que auxiliarão na produção de cópias do

vírus. Cada célula infectada é capaz de produzir milhões de novas partículas virais, que, ao serem liberadas no organismo do hospedeiro, iniciam o processo de infecção de outras células sadias.¹³

Diante da relevância da pandemia de COVID-19, é de suma importância entender a filogenia do vírus SARS-COV-2 ou HCoV-19. Os coronavírus são vírus zoonóticos que pertencem à ordem Nidovirales e família Coronaviridae.¹⁷ São encontrados em muitas espécies animais e podem não causar doenças em seus hospedeiros. Com base na caracterização genética e sorológica, os coronavírus são divididos em quatro gêneros distintos: Alphacoronavirus (alfa-CoV), Betacoronavirus (beta-CoV), Gammacoronavirus (gamma-CoV) e Deltacoronavirus (delta-CoV). Esses grupos de coronavírus tendem a infectar diferentes grupos de animais: Alfacoronavírus e Betacoronavírus são encontrados principalmente em mamíferos, enquanto Gammacoronavírus e Deltacoronavírus são encontrados principalmente em aves e os Gammacoronavírus podem infectar alguns cetáceos, tais como baleias beluga e golfinhos.²

Atualmente, sete coronavírus são conhecidos por causar infecções em humanos, variando em sintomas respiratórios de leve a grave. Quatro são endêmicos e responsáveis por resfriados comuns: HCoV-229E e HCoV-NL63 (alfa), HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 (beta). Os outros três são os vírus mais perigosos, capazes de levar a formas graves da doença, como os dois causadores das epidemias SARS-COV e MERS-COV, e o terceiro novo coronavírus causador da pandemia com início em 2020, o SARS-COV-2, pertencente ao grupo dos beta coronavírus.^{17,18,19}

1.3 PATOGENIA DA COVID-19

A infecção pelo SARS-COV-2 pode variar de casos assintomáticos e manifestações clínicas leves até quadros moderados, graves e críticos. Os casos assintomáticos se caracterizam por teste laboratorial positivo para COVID-19 e ausência de sintomas. Os casos leves, apresentam sintomas não específicos, como tosse, dor de garganta ou coriza, podendo ter ou não anosmia, ageusia, diarreia, dor abdominal, febre, calafrios, mialgia, fadiga e/ou cefaleia. Nos casos moderados, os sintomas mais frequentes são desde tosse persistente e febre persistente diária até sinais de piora progressiva de outros sintomas relacionado à COVID-19, tais como

adinamia, prostração, hiporexia, diarreia, podendo ocorrer também pneumonia sem sinais ou sintomas de gravidade. Os casos graves, compõe a síndrome respiratória aguda grave (SRAG), ou seja, “síndrome gripal que apresenta dispneia/desconforto respiratório ou pressão persistente no tórax ou saturação de oxigênio menor que 95% em ar ambiente ou coloração azulada de lábios ou rosto”.²¹ Nos casos críticos, as manifestações podem incluir “sepse, choque séptico, síndrome do desconforto respiratório agudo, insuficiência respiratória grave, disfunção de múltiplos órgãos, pneumonia grave, necessidade de suporte respiratório e internações em unidades de terapia intensiva”.²⁰

São fatores de risco para as formas mais graves da COVID-19: idade avançada e comorbidades como obesidade, diabetes mellitus, doença pulmonar crônica, doença cardiovascular, doença renal crônica, doença hepática crônica e condições neoplásicas.^{21,22} A complicação mais comum da doença grave de COVID-19 é a deterioração clínica progressiva ou súbita que leva à insuficiência respiratória aguda e síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e/ou falência de múltiplos órgãos levando à morte.²²

Em casos graves de crianças, os principais sintomas incluem “taquipnéia, hipoxemia, desconforto respiratório, alteração da consciência, desidratação, dificuldade para se alimentar, lesão miocárdica, elevação de enzimas hepáticas, disfunção da coagulação, rabdomiólise, cianose central ou saturação de oxigênio < 90-92% em repouso e ar ambiente, letargia, convulsões, dificuldade de alimentação/recusa alimentar”.²⁰

Os primeiros casos de SARS-COV-2 foram identificados como pneumonia de etiologia desconhecida e que se apresentava com: febre com ou sem temperatura aferida, evidência radiográfica de pneumonia, leucócitos baixos ou normais ou linfócitos baixos durante o estágio inicial da doença e sem melhora ou piora dos sintomas após 3 a 5 dias de tratamento antimicrobiano de acordo com as diretrizes clínicas padrão.^{22,23}

Com as pesquisas e aumento do conhecimento sobre a doença, as diretrizes de diagnóstico e tratamento têm sido continuamente atualizadas.

No Brasil, são utilizados os seguintes conceitos para confirmação de caso, que pode se dar por critérios: clínicos, laboratoriais e imagéticos, conforme detalhados a seguir:²⁰

DIAGNÓSTICO CLÍNICO: O diagnóstico pode ser feito por investigação clínico-epidemiológica, anamnese e exame físico adequado do paciente, caso este apresente sinais e sintomas característicos da COVID-19. Deve-se considerar o histórico de contato próximo ou domiciliar nos 14 dias anteriores ao aparecimento dos sinais e sintomas com pessoas já confirmadas para COVID-19. (...) As características clínicas não são específicas e podem ser similares às aquelas causadas por outros vírus respiratórios, que também ocorrem sob a forma de surtos e, eventualmente, circulam ao mesmo tempo, tais como influenza, parainfluenza, rinovírus, vírus sincicial respiratório, adenovírus, outros coronavírus, entre outros.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL: O diagnóstico laboratorial pode ser realizado tanto por testes de biologia molecular, sorologia ou testes rápidos.

- *Biologia molecular: permite identificar a presença do material genético (RNA) do vírus SARS-CoV-2 em amostras de secreção respiratória, por meio das metodologias de Reação em cadeia da polimerase quantitativa via transcriptase reversa (RT-qPCR) e Amplificação isotérmica mediada por alça de transcriptase reversa (RT-LAMP).*
- *Sorologia: detecta anticorpos IgM, IgA e/ou IgG produzidos pela resposta imunológica do indivíduo frente ao vírus SARS-CoV-2, podendo diagnosticar doença ativa ou pregressa. As principais metodologias são: Ensaio Imunoenzimático (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay – ELISA), Imunoensaio por Quimioluminescência (CLIA) e Imunoensaio por Eletroquimioluminescência (ECLIA).*
- *Testes rápidos: os testes rápidos são imunoensaios que utilizam a metodologia de imunocromatografia de fluxo lateral. Os testes rápidos para detecção de antígenos virais são capazes de detectar o SARS-CoV-2 em amostras coletadas de nasal/nasofaringe e devem ser utilizados para a identificação da infecção ativa (fase aguda). Os testes rápidos para detecção de anticorpos IgM e IgG devem ser utilizados com amostras de sangue total obtido por punção digital, soro e plasma e, devido à dinâmica da resposta imunológica contra o SARS-CoV-2, tais testes não devem ser utilizados na fase aguda da doença, devendo ser reservados para a identificação da COVID-19 na fase convalescente ou na identificação de infecção prévia pelo SARS-CoV-2. É importante ressaltar que os testes rápidos para detecção de anticorpos apresentam as mesmas limitações da sorologia convencional.*

DIAGNÓSTICO POR IMAGEM: Imagem (tomografia computadorizada de alta

resolução – TCAR) – as seguintes alterações tomográficas são compatíveis com caso da COVID-19:

- *OPACIDADE EM VIDRO FOSCO periférico, bilateral, com ou sem consolidação ou linhas intralobulares visíveis (“pavimentação”).*
- *OPACIDADE EM VIDRO FOSCO multifocal de morfologia arredondada com ou sem consolidação ou linhas intralobulares visíveis (“pavimentação”).*
- *SINAL DE HALO REVERSO ou outros achados de pneumonia em organização (observados posteriormente na doença).*

(p.13-14)²⁰

O RT-PCR (Reação em cadeia da polimerase via transcriptase reversa), tido como teste padrão-ouro para diagnóstico da COVID-19, apresenta sensibilidade variando de 97% a 85% segundo revisão sistemática com metá-análise publicada em setembro de 2021, e mostra variação de valores de acordo com o tipo de amostra coletada, sendo a amostra de nasofaringe a com mais alta sensibilidade, seguida pelas amostras nasais e depois a amostra de saliva.²⁴ A sensibilidade de um teste mede a capacidade deste para identificar corretamente os pacientes que têm a doença com um resultado de teste positivo. Os pacientes com COVID-19 possuem excreção viral diminuída nos três primeiros dias de sintomas, sendo que entre o 4º e 6º dia do início dos sintomas há um aumento na positividade do RT-PCR.²¹

No início da pandemia, o conhecimento sobre a COVID-19 e seu manejo terapêutico era limitado, e como resultado da urgente necessidade de buscar tratamentos e melhores formas de acompanhamento das pessoas com COVID-19, surgiram diversas terapias e tentativas de reposicionamento de fármacos. Desde então, devido aos intensos esforços de pesquisadores em todo o mundo, foram feitos progressos significativos, levando a uma melhor compreensão não apenas da COVID-19 e seu gerenciamento, mas também ao desenvolvimento de novas opções terapêuticas e vacinas em velocidade sem precedentes.²²

Atualmente, uma variedade de opções terapêuticas foi desenvolvida ou adaptada e estas mostraram resultados positivos: medicamentos antivirais (molnupiravir, paxlovid, remdesivir), anticorpos monoclonais anti-SARS-COV-2 (bamlanivimab/etesevimab, casirivimab/imdevimab e sotrovimab) e agentes imunomoduladores entre eles anti-inflamatórios esteroidais, como dexametasona,

inibidores de interleucina-6 (tocilizumab, sarilumab e siltuximab), inibidores de janus kinase (baricitinib, ruxolitinib, tofacitinib), e de tirosina quinase (acalabrutinib, ibrutinib, rilzabrutinib) encontram-se em avaliação.²² Porém, nem todos os países e instituições de saúde têm acesso a essas medicações.

Estratégias como suporte de oxigenação e ventilação, intubação endotraqueal e ventilação mecânica invasiva de proteção pulmonar, além de cuidados direcionados de acordo com a gravidade da doença, favorecem melhores desfechos no cuidado do paciente com COVID-19.²²

A vacinação, somada às medidas de saúde pública para controle e prevenção da transmissão do SARS-COV-2, é um passo crucial para a contenção da pandemia. Esforços extraordinários de pesquisadores em todo o mundo durante essa pandemia resultaram no desenvolvimento de vacinas contra SARS-COV-2.²² Com o sequenciamento do material genético do SARS-COV-2, em janeiro de 2020, foi possível iniciar as pesquisas para uma vacina e, em março de 2020, a primeira proposta de vacina entrou na fase de testes em humanos.²⁵ A primeira vacina específica para COVID-19 foi aplicada no dia 08 de dezembro de 2020, no Reino Unido, em uma mulher de 90 anos. Trata-se da BNT162b2, uma vacina baseada em RNA mensageiro produzida por meio de uma parceria entre a farmacêutica americana Pfizer e a empresa alemã de biotecnologia (BioNTech). De acordo com o Painel do Coronavírus (COVID-19) da OMS, mais de 10 bilhões de doses de vacinas de COVID-19 foram administradas em todo o mundo até 14 de fevereiro de 2022.²⁶

Até o início de 2022, temos no mundo todo as seguintes vacinas para prevenção de COVID-19: Tozinameran (BNT162b2, Pfizer-BioNTech), mRNA-1273 (Moderna), Ad26.COV2.S (Janssen), ChAdOx1 nCoV-19 (AstraZeneca), Nuvaxovid (Novavax), Covaxin (Bharat Biotech), Sputnik V (Instituto Gamaleya) e CoronaVac (Sinovac). No Brasil, estão disponíveis:²⁰ CoronaVac, ChAdOx1 nCoV-19, Ad26.COV2.S. e Tozinameran (BNT162b2).

1.4 ESTUDOS SOROEPIDEMIOLÓGICOS E GENÉTICOS

Estudos soropidemiológicos são baseados na identificação de mudanças nos níveis de anticorpos específicos de uma população com emprego de testes sorológicos. Este tipo de estudo permite não apenas a identificação de casos, mas também infecções subclínicas.²⁷

A identificação e a disseminação de um patógeno respiratório emergente são acompanhadas por incertezas sobre as principais características epidemiológicas e sorológicas do novo patógeno e, particularmente, sua transmissibilidade (capacidade de se espalhar em uma população) e sua virulência (capacidade de causar casos graves). Nesses casos a vigilância da soropositividade de anticorpos em uma população pode permitir inferências sobre a extensão da infecção e sobre a incidência cumulativa na população.²⁸

Durante a COVID-19 a resposta imune humoral inclui a produção de anticorpos específicos das classes IgG, IgA e IgM. O padrão temporal de detecção desses anticorpos difere de indivíduo para indivíduo, sendo que alguns pacientes podem apresentar níveis detectáveis de anticorpos a partir do primeiro dia após o início dos sintomas, enquanto outros apresentam soroconversão somente após 20 dias.^{29,30} Curiosamente, a cinética da produção de anticorpos contra o SARS-COV-2 também varia entre os pacientes: em alguns ocorre a detecção de IgM seguida por IgG, enquanto em outros, ambas as classes são encontradas simultaneamente. Em alguns pacientes, a soroconversão para a classe IgG precede a ocorrência de anticorpos IgM,^{31,32} o que também foi relatado para SARS-COV³³ e MERS³⁴. Cabe ressaltar que, a despeito do tempo de soroconversão, em estudo que avaliou 285 pacientes, foi demonstrado que, 19 dias após o início dos sintomas, todos os pacientes apresentavam anticorpos IgG contra o vírus, o mesmo não ocorrendo para os anticorpos IgM³⁰, o que também foi relatado em outro estudo de cinética com menor número de pacientes³¹. Deste modo a pesquisa de IgG parece ser a abordagem mais adequada para os ensaios sorológicos na COVID-19. Aliado a isso, um estudo com um número reduzido de participantes demonstrou que alguns pacientes assintomáticos ou com sintomas leves da COVID-19 não apresentavam resposta IgM, a despeito da presença de anticorpos IgG e RT-PCR positivo para o SARS-COV-2,³⁵ confirmando a maior fidelidade dos anticorpos IgG para detecção da infecção. Além de serem os mais frequentemente encontrados nos pacientes, os anticorpos da classe IgG também são os que perduram por mais tempo e, ao lado dos anticorpos IgA, tem papel neutralizante contra o vírus, possivelmente contribuindo para o controle da infecção.^{36,37} Entretanto, o achado de anticorpos IgG por si só não é sinônimo de imunidade permanente contra reinfeção, nem tampouco representa eliminação do vírus.²⁹

A pesquisa de anticorpos entre contactantes de pacientes com COVID-19 também pode trazer informações importantes para o entendimento da pandemia. Na avaliação de 164 contactantes, observou-se que dezesseis foram positivos no teste de RT-PCR, sendo que três não tinham qualquer sintoma de infecção, e todos os RT-PCR positivos foram também positivos para IgG ou IgM antiSARS-COV-2; entre os contactantes negativos no teste de RT-PCR (n=148), sete foram positivos para um dos anticorpos, indicando infecção prévia não diagnóstica ou assintomática, o que reforça a importância da investigação sorológica para fins de vigilância epidemiológica entre contactantes.³⁰ Deste modo, o uso de testes sorológicos pode ajudar a estimar o número real de infectados pelo SARS-COV-2 e a mortalidade causada pelo vírus, auxiliar na estimativa do número de infectados assintomáticos e seu papel na transmissão do vírus, além de contribuir para a avaliação da resposta a processos de imunização.²⁹ Apesar das vantagens, é preciso lembrar que uma das limitações dos ensaios sorológicos é a incapacidade de detecção dos estágios iniciais da infecção.^{38,39} Além disso, o uso de ensaios comerciais, especialmente os testes rápidos, deve ser respaldado por validação³¹. Entretanto, em conjunto com o RT-PCR, os imunoenaios podem ser de grande valia para o entendimento da infecção pelo SARS-COV-2, tomada de decisões e consequente mitigação dos efeitos danosos da pandemia de COVID-19.

Além do diagnóstico dos casos e portadores assintomáticos, outra preocupação relevante é a identificação de fatores de risco associados ao adoecimento e gravidade da doença. A diversidade dos desfechos da COVID-19, facilmente evidenciada pela grande parcela de assintomáticos e pela taxa de letalidade, remete ao caráter complexo, comum entre as doenças infecciosas. Assim, o desfecho depende não apenas da infecção, que assume a condição de necessária, mas não suficiente, sendo dependente também de fatores relacionados ao ambiente e ao hospedeiro, como as comorbidades e a idade. No entanto, os fatores que explicam a ocorrência de desfechos graves em jovens sem comorbidades são desconhecidos até o momento, mas fortalecem a hipótese de que o *background* genético deve ser importante. Assim, genes que codificam proteínas que são pontos-chaves da interação entre o vírus e a célula, bem como aquelas importantes para a patogenia da doença, passam a ser fortes candidatos para carregar marcadores da susceptibilidade genética humana para a doença per se,

bem como para sua gravidade. Nesse contexto, os genes cujos dados de associação são mais consistentes até o momento são: *ACE1*, *ACE2*, *TMPRSS2* e *TLR3*, além do *locus* do sistema sanguíneo ABO (região cromossômica 9q34) e os genes do sistema HLA (6p21).⁴⁰

O conhecimento sobre a susceptibilidade genética humana para a COVID-19 ainda é principiante, sendo relevante a composição de bancos de DNA humano para diferentes populações, uma vez que os estudos para validação e replicação dos fatores genéticos são importantes, podendo ainda haver marcadores informativos específicos para cada população. Nesse contexto, iniciativas em consórcios estão acontecendo e os dados gerados a partir desses estudos devem ser importantes para auxiliar no manejo da doença, aliados as outras estratégias de prevenção e tratamento.

A cidade de Bauru está localizada no centro-oeste do Estado de São Paulo, tem população estimada de 381.706 habitantes e IDHM (índice de desenvolvimento humano municipal) de 0,81 ⁴¹. Bauru sedia uma regional de saúde, a DRS-VI, que abrange 68 municípios do estado, exercendo papel de centro de referência em saúde para um total de 1.744.292 habitantes, o que coloca o município em posição estratégica em saúde pública. Além disso, a cidade ocupa posição de polo econômico e educacional desta região, atraindo trabalhadores, estudantes e visitantes do entorno.⁴¹ Até 11 de fevereiro de 2022, o município registrou 74.117 casos de COVID-19, e 1.343 óbitos.⁴² Assim o município registra 55,7 casos/100.000 habitantes e 3,18 óbitos/100.000 habitantes, estando entre as cidades com altos índices da doença no interior do estado e alvo de preocupação.

Tendo em vista a gravidade da pandemia causada pelo SARS-COV-2, que pela alta taxa de contágio resulta em rápida disseminação e grande número simultâneo de infectados que ameaça o colapso dos sistemas de saúde, com impactos biológicos, psicológicos, sociais e econômicos, urge a necessidade do melhor entendimento da dinâmica da infecção em contextos regionalizados, levando em consideração características sociais, culturais e genéticas das populações locais. Os dados gerados nesse estudo contribuirão para a tomada de decisões em nível local, além de fornecer subsídios para o entendimento da história natural da COVID 19.

Assim, foi estabelecido um biorrepositório e um banco de dados de casos confirmados de COVID-19 e seus contatos intradomiciliares.com uma população de

Bauru-SP. A partir deste foi realizado um estudo que incluiu a validação do teste rápido baseado em antígeno (Ag ECO Test) e a avaliação dos contatos para diagnóstico de COVID-19, e da infecção subclínica por SARS-COV-2.

2. OBJETIVOS

Constituir um biorrepositório e um banco de dados em COVID-19 que possam ser compartilhados para o avanço no entendimento da doença e da sua epidemiologia na cidade de Bauru-SP;

Validar o uso de teste rápido baseado na detecção de antígenos do SARS-COV-2 (Ag ECO Test) para diagnóstico da COVID-19 em contatos de casos confirmados;

Realizar estudo soroepidemiológico para pesquisa de anticorpos anti-SARS-COV-2 em pacientes com síndrome gripal residentes em Bauru-SP e seus contatos familiares;

3. MANUSCRITO

TÍTULO: TEMPO ENTRE O INICIO DOS SINTOMAS E A TESTAGEM ESTÁ RELACIONADO À MAIOR TRANSMISSÃO DE SARS-COV-2 ENTRE CONTATOS FAMILIARES

Daiane Cabrera Menezes 1,2+

ORCID:0000-0003-0375-0977

Jonatas Perico 1,2+

ORCID:0000-0001-9586-3885

Bruna Letícia Martins 1,2

ORCID: 0000-0001-9986-7699

Andressa de Deus Souza1

ORCID:0000-0002-8569-4229

Fabiana Aparecida Camargo Bertonha1

ORCID:0000-0001-7726-8695

Priscila Betoni Ballalai1

ORCID:0000-0002-8626-9558

Luciana Raquel Vicenzi Fachin1

ORCID:0000-0002-7493-950X

Gislaine Aparecida Querino1

ORCID:0000-0002-0077-4634

Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez3

ORCID:0000-0002-6292-9371

Michela Cristina Gavioli Pinto1

ORCID:0000-0001-9433-5546

José Ricardo Bombini1

ORCID:0000-0003-1530-6136

Carlos Magno Castelo Branco Fortaleza4

ORCID: 0000-0003-4120-1258

Fabiana Covolo de Souza Santana1

ORCID:0000-0001-7955-4310

Ana Carla Pereira Latini 1,2

ORCID: 0000-0002-5784-9959

Andrea de Faria Fernandes Belone¹

ORCID ID: 0000-0001-5218-3863

Vania Nieto Brito de Souza^{1,2}

ORCID: 0000-0002-4963-769X

+ Os autores contribuíram igualmente para o manuscrito.

@Autor para correspondência: vbrito@ils.l.br

1 Instituto Lauro de Souza Lima. Secretaria de Estado da Saúde. Governo do Estado de São Paulo. Bauru, SP, Brasil.

2 Programa de Pós-graduação em Doenças Tropicais. Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP, Brasil.

3 Prefeitura Municipal de Bauru. Bauru, SP, Brasil.

4 Departamento de Infectologia. Faculdade de Medicina de Botucatu. Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”. Botucatu, SP, Brasil.

RESUMO

O Brasil apresenta um alto número de casos e óbitos por COVID-19, apesar disso, poucos estudos tratam da infecção por SARS-COV-2 entre contatos familiares em nosso país. Relatamos aqui nossos achados sobre a transmissão de COVID-19 em um estudo de base familiar de Bauru, uma cidade de médio porte, no estado de São Paulo, Brasil. Métodos: O estudo foi realizado em 2020 (julho a novembro) e compreendeu 974 indivíduos, sendo 233 pacientes índice e 741 contatos familiares. Os contatos familiares foram avaliados por meio do teste rápido COVID-19 Ag ECO Test e/ou RT-qPCR logo após o diagnóstico do paciente índice. O uso do teste rápido baseado em antígeno foi validado em 121 indivíduos utilizando RT-PCR como padrão ouro. Trinta dias após a avaliação inicial, os contatos foram novamente avaliados quanto à presença de anticorpos IgM e IgG contra SARS-COV-2. Resultados: Encontramos 333 casos de COVID-19 entre contatos familiares (44,9%). Observamos uma correlação positiva (RR:1,06; IC: 1,01-1,16) entre o tempo decorrido entre o início dos sintomas e o teste para COVID-19 do paciente índice e o número de contatos familiares infectados por SARS-COV-2. A ficha técnica do fabricante do teste relata uma sensibilidade de 96,52% e especificidade superior a 99%. Matsuda et al. (2021) relataram esses índices em 87% e 96% respectivamente, quando avaliaram uma população com 97% de indivíduos sintomáticos. Em nosso estudo, dos 121 indivíduos avaliados, apenas 81% apresentavam sintomas, o que pode explicar a diminuição da sensibilidade para 70,2% apesar da especificidade de 95,3%. Mesmo assim, observamos acurácia diagnóstica de 83,3% corroborando seu uso como bom teste de triagem. Conclusão: Nossos dados reforçam que a testagem precoce da infecção por SARS-COV-2 e a avaliação de contatos familiares são estratégias relevantes para conter a transmissão da COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19. SARS-COV-2. Pandemia. Transmissão.

INTRODUÇÃO

A pandemia da doença causada pelo coronavírus SARS-COV-2 (COVID-19) traz um enorme desafio aos serviços de saúde. Mesmo com vacinas e algumas estratégias terapêuticas promissoras, medidas não farmacêuticas são essenciais para conter a disseminação deste vírus. A identificação precoce de indivíduos infectados e o rastreamento de seus contatos são importantes estratégias para controlar a disseminação do vírus. Estudos que avaliaram o risco de transmissão de acordo com a proximidade entre contatos familiares na China, Estados Unidos e Noruega mostraram taxas de ataque de 15,6%, 31% e 48% respectivamente, sugerindo que esses grupos são grupos epidemiologicamente ligados [1-3]. Uma provável explicação deve ser a adoção limitada de medidas de proteção contra o COVID-19 entre esses grupos. Apesar dos altos índices epidemiológicos no Brasil [4], há poucos estudos sobre transmissão intrafamiliar da infecção por SARS-COV-2 em nossa população [5-9]. Nesse estudo estimamos a transmissão da infecção pelo SARS-COV-2 em contatos familiares em uma cidade de médio porte no Estado de São Paulo.

MÉTODOS

Este estudo incluiu 974 indivíduos de Bauru, município com cerca de 380.000 habitantes [10], localizado no centro do Estado de São Paulo, Brasil. Um total de 233 pacientes com COVID-19 foram diagnosticados por RT-PCR (pacientes índice) e 741 de seus contatos familiares foram avaliados. Outros 16 casos foram considerados coprevalentes por apresentarem o primeiro sintoma de COVID-19 até um dia após o caso índice e foram excluídos das análises. Assumimos como contatos familiares todos os membros da mesma unidade familiar e parentes próximos que não necessariamente residiam na mesma casa, mas tinham contato domiciliar no momento do adoecimento. Os pacientes índice foram diagnosticados por RT-PCR entre julho e de novembro de 2020 no Instituto Lauro de Souza Lima, que fez parte de uma plataforma de laboratórios governamentais para diagnóstico de COVID-19. De acordo com as políticas de saúde pública da época, os pacientes que apresentavam síndrome gripal foram orientados a esperar 3 dias desde o início dos sintomas até o teste para COVID-19. As amostras foram coletadas em Unidades Básicas de Saúde de Bauru e encaminhadas ao Instituto Lauro de Souza Lima para detecção molecular do SARS-COV-2. Imediatamente após a confirmação da COVID-19 nos pacientes índice, os contatos familiares foram convidados por meio chamada telefônica para participar do estudo, independentemente da presença de sintomas. Os testes para SARS-COV-2 foram realizados no dia seguinte à ligação. Durante o período deste estudo, as variantes prevalentes na região Sudeste do Brasil foram B.1.1.28 e B.1.1.23 e nenhuma vacina estava disponível [11]. Um ensaio multiplex qualitativo baseado na detecção dos genes N, E e RdRp de SARS-COV-2 foi empregado para o diagnóstico molecular dos pacientes índice e contatos familiares sintomáticos (GeneFinder™ COVID-19 Plus RealAmpOSANG Healthcare Co.Ltd.). O teste rápido COVID-19 Ag ECO Test (Eco Diagnostica Ltda.) foi usado para testar a presença do antígeno do SARS-COV-2 entre contatos familiares sem sintomas. A fim de validar o uso do teste rápido para diagnóstico de contatos familiares, executamos simultaneamente RT-PCR e teste rápido para 121 indivíduos. Após 30 dias do diagnóstico, pacientes índice e contatos familiares foram convidados a colher amostras de sangue para testar a presença de anticorpos IgM e/ou IgG anti-SARS-COV-2 usando o teste rápido Hilab (Hi Technologies Ltda.). A associação

entre: (i) valores do ciclo threshold (Ct) no RT-PCR, (ii) idade dos pacientes índice e (iii) o intervalo de tempo entre os sintomas e o diagnóstico dos pacientes índice, e a proporção de contatos infectados foram avaliados em modelos de regressão multivariada de Poisson usando o software STATA 16 (StataCorp, College Station, TX, EUA).

APROVAÇÃO ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética Local (CAAE número 4.474.232) e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido foi obtida de todos os participantes. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os padrões éticos da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) e da Declaração de Helsinque de 1975, revisada em 1983.

RESULTADOS

As médias de idade foram 37,7 anos (DP±13,5) e 32 anos (DP±20,2), e a razão homem/mulher foi de 1,95 e 1,17, para pacientes índice e contatos familiares, respectivamente. O tempo médio entre o início dos sintomas dos pacientes índice e a avaliação médica e coleta para o RT-PCR foi de 4,6 dias. O tempo médio entre os primeiros sintomas dos casos índice e a avaliação dos contatos familiares foi de 8,6 dias.

O gene N do SARS-COV-2 foi detectado em todos os casos de COVID-19, enquanto resultados positivos para os genes E e RdRp foram relatados em 94,0% e 88,0% dos casos, respectivamente. Isso está de acordo com a literatura atual que mostra maior sensibilidade para ensaios baseados no gene N [12].

A sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo para o teste COVID-19 Ag ECO, foram de 70,2%, 95,3%, 93,0% e 78,2%, respectivamente. A acurácia diagnóstica foi de 83,3%. Os valores preditivos positivo e negativo são dependentes da prevalência e são válidos apenas para esta população de estudo. Os resultados detalhados são mostrados na Tabela 1.

Tabela 1. Validação do teste COVID-19 Ag ECO versus RT-PCR para diagnóstico de COVID-19 em 121 indivíduos.

Ag ECO Test	RT-PCR		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	40	3	43
Negativo	17	61	78
Total	57	64	121

Sensibilidade: 70,2%; especificidade: 95,3%; valor preditivo positivo: 93,0%; valor preditivo negativo: 78,2%

Encontramos 333 (44,9%) contatos familiares infectados por SARS-COV-2 considerando qualquer um dos resultados, seja para detecção de infecção pelo vírus (teste rápido ou RT-PCR) ou sorologia. Testamos 558 contatos para a presença do

antígeno SARS-COV-2 por teste rápido e obtivemos 124 resultados positivos (22,2%) (Tabela 2). O RT-PCR foi empregado para pesquisar SARS-COV-2 em 183 contatos, sendo que 103 apresentaram resultados positivos (56,3%). Entre os 183 contatos testados por RT-PCR 140 (76,50%) apresentaram sintomas comuns de COVID-19 (febre, dor de cabeça, falta de paladar e olfato, dor de garganta e outros). Entre os 558 contatos testados para o antígeno SARS-COV-2 por teste rápido, 386 (69,2%) não apresentavam nenhum sintoma. Os anticorpos IgM e IgG foram avaliados em 556 indivíduos e 287 (51,6%) apresentaram anticorpos contra SARS-COV-2 um mês após o diagnóstico inicial.

Tabela 2. Resultados dos testes COVID-19 Ag ECO, RT-PCR e sorologia entre os contatos familiares dos pacientes índice com COVID-19.

		Sintomas*			
		Sintomáticos	Assintomáticos	Não reportado	Total
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
COVID-19 Ag	Positivo	66 (39.8%)	57 (14.8%)	1 (16.7%)	124 (22.2%)
	Negativo	100 (60.2%)	329 (85.2%)	5 (83.3%)	434 (77.8%)
ECO Teste	Total	166 (29.7%)	386 (69.2%)	6 (1.1%)	558 (100.0%)
RT-PCR	Positivo	78 (55.7%)	13 (46.4%)	12 (80.0%)	103 (74.2%)
	Negativo	62 (44.3%)	15 (53.6%)	3 (20.0%)	80 (25.8%)
SARS-CoV-2	Total	140 (76.5%)	28 (15.3%)	15 (8.2%)	183 (100.0%)
Sorologia	Positivo	116 (67.4%)	113 (36.9%)	58 (74.4%)	287 (51.6%)
	Negativo	56 (32.6%)	193 (63.1%)	20 (25.6%)	269 (48.4%)
Igg/IgM					556 (100.0%)
	Total	172 (20.8%)	306 (62.8%)	78 (16.4%)	

*Presença ou ausência de sintomas gripais durante a primeira avaliação logo após o diagnóstico do paciente índice.

O número de dias decorridos entre os primeiros sintomas de COVID-19 e o dia do teste RT-PCR, ou seja, o tempo para a confirmação laboratorial, foi associado com maior transmissão para contatos familiares (IRR=1,06; IC95%:1,06–1,16). Ou

seja, cada dia de atraso no diagnóstico está associado à infecção de 6% dos contatos domiciliares. Ao repetirmos o modelo de regressão de Poisson excluindo os valores de Ct e/ou idade obtivemos resultados semelhantes. Os valores isolados de Ct não influenciaram os resultados (Tabela 3).

Tabela 3. Análise de regressão multivariada de Poisson entre fatores preditivos relacionados ao caso índice e taxa de transmissão para contatos familiares.

Fator Preditivo	TI (95%IC)	<i>p</i>
Idade	0.99 (0.98-1.00)	0.09
Dias entre sintomas e teste de RT-PCR	1.06 (1.01-1.16)	0.02
CtE	1.02(0.89-1.17)	0.75
CtN	1.02 (0.95-1.09)	0.63
CtR	0.97 (0.86-1.09)	0.58

TI: Taxa de incidência; IC: Intervalo de confiança; CtE, ciclo de detecção gene E; CtN, ciclo de detecção gene N; CtR, ciclo de detecção gene RdRp.

DISCUSSÃO

Nossos dados demonstraram que 44,9% dos contatos familiares foram infectados por SARS-COV-2. Os primeiros casos de COVID-19 foram confirmados em Bauru em 30 de março de 2020 [13]. O estudo EPICOVID19-BR, Pesquisa Nacional de Soroprevalência do Brasil, relatou que, até junho de 2020, apenas 0,4% (1 em 250 indivíduos) da população geral de Bauru tinha anticorpos contra o SARS-COV-2 [14]. Até 10 de novembro de 2020, 17.930 casos de COVID-19 haviam sido confirmados pelas autoridades municipais, o que representa cerca de 4,7% da população da cidade [15]. Em março de 2020 o Governo do Estado de São Paulo adotou intervenções não farmacêuticas como medidas de distanciamento social, uso de álcool gel e máscaras faciais, além de medidas restritivas como fechamento de lojas, restaurantes, escolas e serviços públicos, para conter a disseminação do vírus SARS-COV-2. No entanto, os trabalhadores de atividades essenciais não interromperam suas atividades externas, como trabalhar ou usar transporte público, ficando expostos à infecção por COVID-19. Pessoas com sintomas de doenças respiratórias agudas foram orientadas a ficar em casa e esperar pelo menos 4 dias após o primeiro sintoma antes de fazer o teste molecular para COVID-19. Em casa, essas pessoas podem ter favorecido a transmissão entre contatos domiciliares. Levando em consideração que o período de nosso estudo, julho a novembro de 2020, se sobrepôs à estas regras governamentais, é razoável supor a maior transmissão intradomiciliar em detrimento da transmissão comunitária, o que ampara os achados de transmissão familiar de SARS-COV-2 aqui relatados.

Conforme demonstrado por nossos dados, houve uma correlação positiva entre o número de dias decorridos entre o início dos sintomas e a realização do teste de COVID-19 e o número de contatos familiares infectados por SARS-COV-2. Podemos supor que o longo tempo para procurar atendimento de saúde atrasou a adoção das medidas preventivas entre os familiares, favorecendo a transmissão da infecção, pois parte da população tem dificuldade em acreditar que está infectada pelo SARS-COV-2. Esse fato pode ter impacto direto em idosos que foram orientados a ficar em casa para evitar o contágio, mas estavam vulneráveis entre os familiares. Um estudo de transmissão de COVID-19 realizado na Índia demonstrou que o risco relativo de infecção por SARS-COV-2 foi de 30,9 entre contatos

domiciliares em comparação com contatos ocupacionais em ambiente aberto [16]. Kuba et al. [17] mostraram que o isolamento dos pacientes índice até 3 dias após o primeiro sintoma reduz a taxa de ataque secundário, confirmando o valor do diagnóstico precoce e do distanciamento para evitar a disseminação do COVID-19 mesmo entre contatos familiares [17]. Além disso, considerando a ocorrência de transmissão pré-sintomática de SARS-COV-2, o diagnóstico precoce de COVID-19 em contatos domiciliares de pacientes índice é importante para promover a quarentena imediata contribuindo para o controle da disseminação viral, muito mais do que monitorar a ocorrência de sintomas [18]. Essas estratégias são especialmente importantes quando medidas mais restritivas como o lockdown se tornam inviáveis por razões socioeconômicas, mostrando que a combinação de várias abordagens é necessária [19]. Nesse contexto, o uso de testes rápidos para diagnóstico de COVID-19 torna-se uma importante ferramenta para auxiliar no controle da disseminação do vírus. O teste COVID-19 Ag ECO apresentou uma boa acurácia diagnóstica (83,3%) confirmando a presença de SARS-COV-2 mesmo entre pessoas assintomáticas.

Este estudo possibilitou a coleta de material de grande importância para o entendimento do curso da doença COVID-19, que devem contribuir com a compreensão da epidemiologia do município de Bauru-SP. Conseguimos ainda comprovar a eficácia do teste rápido para detecção de antígenos SARS-COV-2 para o diagnóstico precoce, bem como da inclusão da investigação de contatos domiciliares nesta estratégia. Os dados expostos no estudo reforçam a urgência dos decisores políticos em dar prioridade ao diagnóstico precoce das pessoas infectadas por SARS-COV-2 e à implementação de intervenções direcionadas para a redução da transmissão extradomiciliar, como o isolamento precoce, higiene doméstica, uso de máscaras, de forma a reduzir a propagação do vírus entre contatos próximos.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos a todos os funcionários do ILSL que contribuíram para o desenvolvimento deste estudo, em especial Claudia Carvalho, Claudia Sessílio, Cassia Pinke, Maria Helena Pereira, Nelci Ribeiro e Edlaine Marques pela assistência técnica.

CONFLITO DE INTERESSE

Os autores não têm conflitos de interesse para declarar que sejam relevantes para o conteúdo deste artigo.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Concepção, desenho e redação do manuscrito – ACPL; FCSS; JP; JRB; CMCBF; VNBS;

AFFB. Trabalho experimental –ACPL; FCSS; JP; BLM; DCM;ADS; FACB; PBB;

LRVF; GAQ; MCGP; AFFB. Análise de dados – ACPL; FCSS; CMCBF; VNBS; AFFB.

REFERENCES

1. D'Onofrio, L. E., Buono, F. D. and Cooper, M. A. R. (2021) 'Cohabitation COVID-19 transmission rates in a United States suburban community: A retrospective study of familial infections', *Public Health*. Elsevier B.V., 192, pp. 30–32. doi: 10.1016/j.puhe.2021.01.003.
2. Kuwelker, K. et al. (2021) 'Attack rates amongst household members of outpatients with confirmed COVID-19 in Bergen, Norway: A case-ascertained study', *The Lancet Regional Health - Europe*. Elsevier BV, 3, p. 100014. doi: 10.1016/j.lanepe.2020.100014.
3. Li, F. et al. (2021) 'Household transmission of SARS-CoV-2 and risk factors for susceptibility and infectivity in Wuhan: a retrospective observational study', *The Lancet Infectious Diseases*. Lancet Publishing Group, 21(5), pp. 617–628. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30981-6.
4. Coronavirus Brasil. [database on the Internet]. Painel Geral – [cited 2021 Nov 3]. Available from: <https://covid.saude.gov.br/>
5. Ibge.gov.br. [database on the Internet]. Bauru. Panorama – [cited 2021 Oct 28]. Available from: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/bauru/panorama>
6. Cho, H. et al. (2020) 'Positive control synthesis method for COVID-19 diagnosis by one-step real-time RT-PCR', *Clinica Chimica Acta*. Elsevier B.V., 511, pp. 149–153. doi: 10.1016/j.cca.2020.10.001.
7. G1.globo.com [homepage on the internet] Bauru divulga primeiros casos positivos de Covid-19 [updated 2020 March 30; cited 2021 Nov 3] Available from: <https://g1.globo.com/sp/bauru-marilia/noticia/2020/03/30/bauru-divulga-primeiro-caso-positivo-de-covid-19.ghtml>
8. epicovid19brasil.org [database on the Internet]. Banco de dados - [cited 2021 Oct 28]. Available from: <http://www.epicovid19brasil.org>
9. Bauru.sp.gov.br. [homepage on the Internet]. Coronavirus. – [cited 2021 Oct 28]. Available from: <https://www2.bauru.sp.gov.br/coronavirus/informes.aspx>
10. Sundar, V. and Bhaskar, E. (2021) 'Low secondary transmission rates of sars-cov-2 infection among contacts of construction laborers at open air environment', *GERMS*. European Academy of HIV/AIDS and Infectious Diseases, 11(1), pp. 128–131. doi: 10.18683/germs.2021.1250.
11. Kuba, Y. et al. (2021) 'The characteristics of household transmission during COVID-19 outbreak in Okinawa, Japan from February to May 2020', *Japanese Journal of Infectious Diseases*. Editorial Committee of Japanese Journal of Infectious Diseases, National Institute of Infectious Dis. doi: 10.7883/yoken.jjid.2020.943.

12. Peak, C. M. et al. (2020) 'Individual quarantine versus active monitoring of contacts for the mitigation of COVID-19: a modelling study', *The Lancet Infectious Diseases*. Lancet Publishing Group, 20(9), pp. 1025–1033. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30361-3.

13. Fyles, M. et al. (2021) 'Using a household-structured branching process to analyse contact tracing in the SARS-CoV-2 pandemic', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. Royal Society Publishing, 376(1829). doi: 10.1098/rstb.2020.0267.

4. CONCLUSÃO

Realizamos a coleta de material biológico de 974 indivíduos sendo 233 casos índices e 741 contatos familiares, e construímos um biorrepositório compreendendo: banco de dados clínicos e sociodemográficos, de DNA genômico que possibilita a realização de estudo genético e de soro.

Validamos o teste rápido Ag ECO Test, baseado na detecção de proteínas do SARS-COV-2, em 121 indivíduos.

Avaliamos a presença de anticorpos dos tipos IgM e IgG num período de 6 meses, e desenvolvemos o estudo soroepidemiológico para pesquisa de anticorpos anti-SARS-COV-2 em pacientes com síndrome gripal residentes em Bauru-SP e seus contatos familiares, originando dados de relevância que contribuem com a epidemiologia do município.

REFERÊNCIAS

1. World Health Organization- WHO. WHO director general's opening remarks at the media briefing on covid-19 [Internet]. Geneva: WHO; 2020 [cited 2021 Jul 17]. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19>)
2. Singh D, Yi SV. On the origin and evolution of SARS-CoV-2. *Exp Mol Med*. 2021;53:537-47. doi: <https://doi.org/10.1038/s12276-021-00604-z>.
3. World Health Organization- WHO. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 8 February 2022 [Internet]. Geneva: WHO; 2020 [cited 2022 Feb 05]. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---8-february-2022>
4. Souza WM, Buss LF, Candido DS, Carrera J-P, Li S, Zarebski AE, et al. Epidemiological and clinical characteristics of the COVID-19 epidemic in Brazil. *Nat Hum Behav*. 2020;4:856-65. doi: <https://doi.org/10.1038/s41562-020-0928-4>.
5. Conselho Nacional de Seretários da Saúde - CONASS [Internet]. Brasília: CONASS; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www.conass.org.br/painelconasscovid19/>
6. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim epidemiológico especial: doença pelo Coronavírus COVID-19: semana epidemiológica [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/boletins-epidemiologicos/covid-19/2022/boletim-epidemiologico-no-95-boletim-coe-coronavirus.pdf>
7. Johns Hopkins Center for System Science and Engineering. Coronavirus COVID-19 Global Cases; 2021 [cited 2022 Jan 14]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
8. Coccia M. Preparedness of countries to face COVID-19 pandemic crisis: Strategic positioning and factors supporting effective strategies of prevention of pandemic threats, *Environmental Research*, Volume 203, 2022, 111678, ISSN 0013-9351. doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111678>.
9. World Health Organization - WHO. Classification of Omicron (B.1.1.529): SARS-CoV-2 Variant of Concern - 26 November 2021 [Internet]. Geneva: WHO; 2020 [cited 2022 Feb 05]. Available from: [https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-\(b.1.1.529\)-sars-cov-2-variant-of-concern](https://www.who.int/news/item/26-11-2021-classification-of-omicron-(b.1.1.529)-sars-cov-2-variant-of-concern)
10. Yang Y, Peng F, Wang R, Kai Guan, Taijiao Jiang, Guogang Xu, et al. The deadly coronaviruses: the 2003 SARS pandemic and the 2020 novel coronavirus epidemic in China. *J Autoimmun*. 2020;109:102434. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2020.102434>.

11. World Health Organization - WHO. Summary table of SARS cases by country, 1 November 2002-7 August 2003. *Wkly Epidemiol Rec.* 2003;78:310-1. [cited 2022 Jan 11] Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/232250>
12. World Health Organization - WHO. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) [Internet]. Geneva: WHO; 2019 [cited 2021 Jul 17]. Available from: <http://www.who.int/emergencies/mers-cov/en/>
13. Xiao X, Newman C, Bueschig CD, Macdonald DW, Zhou ZM. Animal sales from Wuhan wet markets immediately prior to the COVID-19 pandemic. *Scientific Reports.* 2021;11:11898. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-91470-2>.
14. Hosseini ES, Kashani NR, Nikzad H, Azadbakht J, Bafrani HH, Kashani HH. The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. *Virology.* 2020;551:1-9. doi: <https://doi.org/10.1016/j.virol.2020.08.011>.
15. Holmes EC, Goldstein SA, Rasmussen AL, Robertson DL, Crits-Christoph A, Wertheim JO, et al. The origins of SARS-CoV-2: a critical review. *Cell.* 2021;184:4848-56. doi: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.017>.
16. Boopathi S, Poma AB, Kolandaivel P. Novel 2019 coronavirus structure, mechanism of action, antiviral drug promises and rule out against its treatment. *J Biomol Struct Dyn.* 2021;39:3409-18. doi: 10.1080/07391102.2020.1758788.
17. Berekaa MM. Insights into the COVID-19 pandemic: origin, pathogenesis, diagnosis, and therapeutic interventions. *Front Biosci (Elite Ed).* 2021;13:117-39. doi: 10.2741/874.
18. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92:418-23. doi: <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>.
19. Chen Y, Liu Q, Guo D. Emerging coronaviruses: genome structure, replication, and pathogenesis. *J Med Virol.* 2020;92:418-23. doi: <https://doi.org/10.1002/jmv.25681>.
20. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica : emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019 – covid-19 [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2022 [cited 2021 Jul 17]. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/publicacoes-tecnicas/guias-e-planos/guia-de-vigilancia-epidemiologica-covid-19/view>
21. Dias V, Carneiro M, Vidal C, Corradi M, Brandão D, Cunha C, et al. Orientações sobre diagnóstico, tratamento e isolamento de pacientes com COVID-19. *J Infect Control* [Internet]. 2020 [cited 2021 Jul 17];9:1-20. Available from: <https://infectologia.org.br/wp-content/uploads/2020/07/orientacoes-sobre-diagnostico-tratamento-e-isolamento-de-pacientes-com-covid-19.pdf>
22. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di Napoli R. Features, evaluation, and treatment of coronavirus (COVID-19) [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 [cited 2021 Jul 17]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>

23. The-nCoV Outbreak Joint Field Epidemiology Investigation Team, Li Q. An outbreak of NCIP (2019-nCoV) infection in China - Wuhan, Hubei Province, 2019-2020. *China CDC Wkly.* 2020;2:79-80.
24. Tsang NNY, So HC, Ng KY, Cowling BJ, Leung GM, Ip DKM. Diagnostic performance of different sampling approaches for SARS-CoV-2 RT-PCR testing: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2021;21:1233-45. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(21\)00146-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(21)00146-8).
25. Silva LOP, Nogueira JMR. A corrida pela vacina em tempos de pandemia: a necessidade da imunização contra a COVID-19. *RBAC [Internet].* 2020 [cited 2021 Jul 17];52:149-53. Available from: <http://www.rbac.org.br/wp-content/uploads/2020/11/RBAC-vol-52-2-2020-A-corrída-pelas-vacinas.pdf>
26. World Health Organization. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard [Internet]. Geneva: WHO; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://covid19.who.int/>
27. Brasil. Ministério da Saúde. Seroepidemiologia [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <http://bvsm2.saude.gov.br/cgi-bin/multites/mtwdk.exe?k=default&l=60&w=5060&n=1&s=5&t=2>
28. Cutts FT, Hanson M. Seroepidemiology: an underused tool for designing and monitoring vaccination programmes in low- and middle-income countries. *Trop Med Int Health.* 2016;21:1086-98. doi: 10.1111/tmi.12737.
29. Theel ES, Slev P, Wheeler S, Couturier MR, Wong SJ, Kadkhoda K. The role of antibody testing for SARS-CoV-2: is there one? *J Clin Microbiol.* 2020;58:e00797-20.
30. Long QX, Liu BZ, Deng HJ, Hu J, Liu B, Liao P, et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. *Nat Med.* 2020;26:845-8. doi: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.
31. Demey B, Daher N, François C, Lanoix J-P, Duverlie G, Castelain S, et al. Dynamic profile for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies using four immunochromatographic assays. *J Infect.* 2020;81:e6-10.
32. QU J, Wu C, Li X, Zhang G, Jiang Z, Li X, et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis.* 2020;71:2255-8.
33. Hsueh PR, Huang LM, Chen PJ, Kao C-L, Yang P-C. Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus. *Clin Microbiol Infect.* 2004;10:1062-6. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2004.01009.x>.
34. Corman VM, Albarrak AM, Omrani AS, Albarrak MM, Farah ME, Almasri M, et al. Viral shedding and antibody response in 37 patients with middle east respiratory syndrome coronavirus infection. *Clin Infect Dis.* 2016;62:477-83. doi: <https://doi.org/10.1093/cid/civ951>.

35. Lee Y-L, Liao C-H, Liu P-Y, Cheng C-Y, Chung M-Y, Liu C-E, et al. Dynamics of anti-SARS-Cov-2 IgM and IgG antibodies among COVID-19 patients. *J Infect.* 2020;81:e55-8.
36. Casadevall A, Pirofski LA. The convalescent sera option for containing COVID-19. *J Clin Invest.* 2020;130:1545-8.
37. Zhu M. SARS immunity and vaccination. *Cell Mol Immunol.* 2004;1:193-8.
38. Jacofsky D, Jacofsky EM, Jacofsky M. Understanding antibody testing for COVID-19. *J Arthroplasty.* 2020;35:S74-81.
39. Imai K, Tabata S, Ikeda M, Noguchi S, Kitagawa Y, Matuokaet M, et al. Clinical evaluation of an immunochromatographic IgM/IgG antibody assay and chest computed tomography for the diagnosis of COVID-19. *J Clin Virol.* 2020;128:104393.
40. Gaspersic J, Dolzan V. Viral and Host Genetic and Epigenetic Biomarkers Related to SARS-CoV-2 Cell Entry, Infection Rate, and Disease Severity. *Biology (Basel).* 2022 Jan 23;11(2):178.
41. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. Cidades e Estados: Bauru [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sp/bauru.html>
42. Bauru. Informe Epidemiológico nº 25 de 2022 [Internet]. Bauru: Prefeitura Municipal; 2022 [cited 2022 Jan 17]. Available from: <https://www2.bauru.sp.gov.br/>
43. Sharun, Khan, et al. "SARS-CoV-2 in animals: potential for unknown reservoir hosts and public health implications." *Veterinary Quarterly* 41.1 (2021): 181-201.
44. Matsuda, Elaine Monteiro, et al. "Field evaluation of COVID-19 antigen tests versus RNA based detection: potential lower sensitivity compensated by immediate results, technical simplicity, and low cost." *Journal of Medical Virology* 93.7 (2021): 4405-4410.