



Universidade de Brasília
Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical
Mestrado em Clínica das Doenças Infecciosas e Parasitárias

DENYSE FURTADO AROUCHA

**Análise da imunogenicidade induzida pelas vacinas COVID-19 em
profissionais de saúde participantes do Estudo SEVACoV-PRO no
Distrito Federal, um estudo coorte**

Orientadora:
Prof^a. Dr^a. Djane Braz Duarte

Brasília,
Julho de 2024

DENYSE FURTADO AROUCHA

**Análise da imunogenicidade induzida pelas vacinas COVID-19 em
profissionais de saúde participantes do Estudo SEVACoV-PRO no
Distrito Federal, um estudo coorte**

Dissertação para conclusão no
curso de Mestrado em Clínica
das Doenças Infecciosas e
Parasitárias do Programa de
Pós-graduação em Medicina
Tropical

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Djane Braz Duarte



Brasília,
Julho de 2024

FICHA CATALOGRÁFICA

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fa Furtado Aroucha, Denyse
Análise da imunogenicidade induzida pelas vacinas
COVID-19 em profissionais de saúde participantes do Estudo
SEVACoV-PRO no Distrito Federal, um estudo coorte / Denyse
Furtado Aroucha; orientador Djane Braz Duarte. -- Brasília,
2024.
151 p.

Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) --
Universidade de Brasília, 2024.

1. COVID-19. 2. Vacinas. 3. Imunogenicidade. 4.
Profissionais de saúde brasileiros. 5. SEVACoV-PRO. I. Braz
Duarte, Djane, orient. II. Título.

BANCA EXAMINADORA

Dissertação aprovada em 26/07/2024

Prof.^a Dra. Djane Braz Duarte (Presidente)
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical - Universidade de
Brasília

Prof.^a Dra. Ingrid Ferreira Metzger
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical - Universidade de
Brasília

Prof. Dr. José Ângelo Lauletta Lindoso
Instituto de Medicina Tropical de São Paulo - Universidade de São Paulo

Prof.^a Dra. Fabiana Brandão Alves Silva
Programa de Pós-graduação em Medicina Tropical - Universidade de
Brasília

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a meus familiares, especialmente meus pais Belmira e João Flávio, que desde cedo me incentivam a valorizar e seguir no caminho da educação.

Agradeço a minha orientadora Dr^a. Djane, por mais esta oportunidade de aprendizado e parceria. Espero conseguir ser uma profissional tão dedicada, competente e inspiradora como a senhora (e trabalharei para isso)!

Agradeço aos meus amigos mais que queridos, (Rita, Erik, Malu, Henrique, Alliny, Victor) a quem amo e trouxe para partilhar dessa experiência comigo. Vocês me trouxeram ânimo, conselhos e companheirismo ao longo desses dois anos. Obrigada por aguentarem minhas reclamações e não desistirem de mim!!!

Agradeço a banca avaliadora, por disponibilizar seus conhecimentos, contribuições e tempo neste momento tão importante.

Agradeço a toda equipe do projeto SEVACoV-PRO DF pela oportunidade e apoio na condução deste trabalho.

Agradeço ao PPGMT e todos os docentes, em especial ao Dr. Gustavo Romero, pelo acompanhamento ao longo deste mestrado. É muito importante conviver com profissionais dedicados e que sempre estiveram dispostos a partilhar seus conhecimentos e auxiliar em meu desenvolvimento profissional.

RESUMO

A pandemia de COVID-19 iniciou como um surto de infecções em dezembro de 2019 na China, com relatos de casos que se assemelhavam a quadros de pneumonia de etiologia viral, causadas a princípio por um agente infeccioso até então desconhecido. Já em março de 2020 com o SARS-CoV-2 identificado como causador destes quadros clínicos e o número de casos aumentando diariamente em todos os continentes, a Organização Mundial da Saúde declarou a pandemia. Dentre os recursos terapêuticos utilizados para prevenir a infecção por SARS-CoV-2 são as vacinas, que foram disponibilizadas para a população mundial com diferentes plataformas tecnológicas e sua distribuição ocorreu de forma escalonada, estando os profissionais de saúde dentre a prioridade de imunização. Ademais, o esquema vacinal administrado no Brasil foi distinto do realizado em países europeus e Estados Unidos, por exemplo. Desta forma, a avaliação da imunogenicidade desta população no Brasil é importante. A coorte SEVACoV-PRO DF é composta de profissionais de saúde maiores de 18 anos, com escolaridade de nível técnico a superior, atuantes em unidades de saúde do Distrito Federal, acompanhados por até 30 meses após o início do esquema vacinal para COVID-19. A imunogenicidade foi avaliada mediante quantificação de anticorpos IgG anti-S RBD (do inglês, *Spike Protein Receptor-Binding Domain*) com o kit SARS-CoV-2 IgG II Quant B6S60B (6S60-22) e ensaio realizado no equipamento ARCHITECT i1000sr, ambos da empresa Abbott® (Abbott, EUA). A análise dos dados foi feita com teste de Kruskal-Wallis e teste U de Mann-Whitney, com $p < 0,05$. SEVACoV-PRO DF tem 99,3 % de participantes vacinados, dos quais 83,6% receberam o regime primário com CoronaVac. Dentre os vacinados, 70,6% completaram seu esquema vacinal até o segundo reforço. Os participantes majoritariamente são do sexo feminino (81,7%) e a faixa etária da coorte está entre 40 – 49 anos (34,4%). O nível de escolaridade declarado pela maioria dos participantes foi especialização (44,0%) e os técnicos de enfermagem correspondem a 26,6% da população. Nossos resultados mostram que o nível

de anticorpos em participantes vacinados pode ser até 28x maior comparado ao de não vacinados. Ademais, a estratificação da população por histórico de COVID-19 apresentou que os participantes que já haviam sido diagnosticados tinham uma elevação de 1,8x nos níveis de anticorpos anti-S RBD. Por sua vez, a quantidade de doses recebidas também influencia a resposta imune humoral, e observamos um aumento de até 48,4x pós-vacinação com o primeiro reforço e de 54,5x pós-vacinação com o segundo reforço. A análise da resposta imunológica humoral da coorte SEVACoV-PRO DF nos permite concluir que a administração de doses de reforço heterólogas conseguem elevar os níveis de anti-S RBD, mesmo que o imunizante utilizado no regime primário não tenha sido com vacinas de mRNA.

Palavras-chave: COVID-19; vacinas; imunogenicidade; profissionais de saúde brasileiros; SEVACoV-PRO DF

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic began as an outbreak of infections in December 2019 in China, with reports of cases that resembled pneumonia of viral etiology, initially caused by a previously unknown infectious agent. In March 2020, with SARS-CoV-2 identified as the cause of these clinical conditions and the number of cases increasing daily on all continents, the World Health Organization declared the pandemic. Among the therapeutic resources used to prevent SARS-CoV-2 infection are vaccines, which were made available to the world population with different technological platforms and their distribution occurred in a staggered manner, with health professionals being among the priority group for immunization. Furthermore, once the vaccination schedule administered in Brazil was different from that carried out in European countries and the United States, for example, the evaluation of the immunogenicity of this population is important. To assess it, we evaluated the immunogenicity of the SEVACoV-PRO DF, which is a cohort composed of healthcare professionals over 18 years of age, with technical to higher education, working in healthcare units in the Federal District, followed for up to 30 months after the start of the COVID-19 vaccination schedule. The immunogenicity was assessed by Chemiluminescent immunoassay, quantifying IgG anti-S RBD (*Spike Protein Receptor-Binding Domain*) antibodies with the SARS-CoV-2 IgG II Quant B6S60B (6S60-22) kit and an assay performed on the ARCHITECT i1000sr equipment, both from Abbott® (Abbott, USA). Data analysis was performed using the Kruskal-Wallis test and Mann-Whitney U test, with $p < 0.05$. SEVACoV-PRO DF has 99.3% of vaccinated participants, of which 83.6% received the primary regimen with CoronaVac. Among those vaccinated, 70.6% completed their vaccination schedule until the second booster. The participants were mostly women (81.7%) and the age range of the cohort was 40–49 (34.4%). The education level declared by most participants was specialization (44.0%) and nursing technicians correspond to 26.6% of the population. Our results show that the antibody level in vaccinated participants can be up to 28x higher compared to that of unvaccinated ones. Furthermore, the stratification of the population by

history of COVID-19 showed those who had already been diagnosed a 1.8x increase in the levels of anti-S RBD antibodies. In turn, the number of doses received also influences this humoral immune response, there was an increase of up to 48.4x post-vaccination with the first booster and 54.5x post-vaccination with the second booster. The analysis of the humoral immune response of the SEVACoV-PRO DF cohort allows us to conclude that the administration of heterologous booster doses can increase the levels of anti-S RBD regardless of same the immunizing agent used in the primary regimen wasn't mRNA vaccines

Keywords: COVID-19; vaccine; immunogenicity; Brazilian healthcare workers; SEVACoV-PRO DF.

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

Ad.26.COv2.S: Janssen

Anvisa: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

BNT162b2: Pfizer

ChAdOx1-S: AstraZeneca

CEPI: Coalition for Epidemic Preparedness Innovations

CMIA: Imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência

CNES: Conselho Nacional de Estabelecimentos de Saúde

COVID-19: Coronavirus disease 2019

DF: Distrito Federal

E: Proteína Envelope

ECA2: Enzima Conversora de Angiotensina 2

ESAVI: Eventos Supostamente Atribuíveis à Vacinação ou Imunização

EUA: Estados Unidos

FP: Peptídeo de fusão

HR: Heptad Repeat

IFN γ : Interferon γ

IgG: Imunoglobulina G

IMC: Índice de massa corporal

M: Proteína Membrana/Matriz

MERS-CoV: Coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio

N: Proteína Nucleocapsídeo

OMS: Organização Mundial da Saúde

PNI: Programa Nacional de Imunizações

RBD: Receptor binding domain

RLU: Unidades de luz relativas

RNA: Ácido ribonucleico

RP: Regime primário

RT-PCR: Polymerase Chain Reaction in Real Time

mRNA: Ácido ribonucleico mensageiro

mRNA-1273: Moderna

S: Proteína Spike

SARS-CoV: Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave

S: Proteína Spike

SEVACoV-PRO: Efetividade e segurança das vacinas COVID-19 distribuídas pelo Programa Nacional de Imunização: estudo de coorte multicêntrico em profissionais de saúde de instituições hospitalares

SEVACoV-PRO DF: População do Distrito Federal participantes do estudo SEVACoV-PRO

TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TMPRSS2: Transmembrane Serine Protease 2

TNF: Fator Necrótico Tumoral

VOC: Variants of concern

VOI: Variants of interest

VUM: Variants under monitoring

V1: Visita 1

1R: Primeiro reforço

2R: Segundo reforço

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Imunizantes com solicitação de registro no Brasil	29
Quadro 2: Grupo 1 – vacinados.....	48
Quadro 3: Grupo 2 – não vacinados	48

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Caracterização dos dados sociodemográficos e clínicos	56
Tabela 2: Caracterização dos regimes vacinais	59
Tabela 3: Falha vacinal secundária e gravidade das infecções	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Mecanismo de infecção em célula hospedeira com o vírus SARS-CoV-2 mediante ativação por TMPRSS2	22
Figura 2 – Interação da proteína S do SARS-CoV-2 com receptor ECA2 e fusão de membranas	23
Figura 3 – Mecanismo de infecção em célula hospedeira com o vírus SARS-CoV-2 mediante ativação por capesina-L.....	24
Figura 4 – Triagem de voluntários	55
Figura 5 – Avaliação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD ao longo do tempo	62
Figura 6 – Avaliação do efeito da infecção com SARS-CoV-2 na produção de anticorpos IgG anti-S RBD ao longo do tempo	65
Figura 7 – Avaliação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD considerando a quantidade de doses recebidas e histórico de infecções com SARS-CoV-2.....	68
Figura 8 – Comparação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD em grupos estratificados por visita e tempo de infecção com SARS-CoV-2 (intervalo de ≤ 3 ou > 3 meses).....	71
Figura 9 – Comparação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD em grupos estratificados por esquema vacinal recebido – Esquema CoronaVac.....	75

Figura 10 – Comparação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD em grupos estratificados por esquema vacinal recebido – Esquema ChAdOx1-S	78
---	----

ÓRGÃOS FINANCIADORES

O estudo “Efetividade e segurança das vacinas COVID-19 distribuídas pelo Programa Nacional de Imunização: estudo de coorte multicêntrico em profissionais de saúde de instituições hospitalares (SEVACoV-PRO)” foi financiado pelo Ministério da Saúde – Governo Federal.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	20
2 JUSTIFICATIVA	42
3 OBJETIVOS	45
4 METODOLOGIA	47
5 RESULTADOS	54
6 DISCUSSÃO	82
7 LIMITAÇÕES.....	97
8 CONCLUSÃO.....	99
9 REFERÊNCIAS	101
10 ANEXO I.....	115
11 ANEXO II.....	120
12 ANEXO III.....	125

INTRODUÇÃO

1. Introdução

1.1 SARS-CoV-2: surgimento, evolução e mecanismo de infecção

Em dezembro de 2019, a cidade chinesa de Wuhan reportou à Organização Mundial da Saúde (OMS) o surgimento de casos de um tipo de pneumonia com características virais em seres humanos, causada por agente infeccioso até então desconhecido¹. Posteriormente, identificou-se que o agente causador dessa pneumonia se tratava de um Coronavirus, família *Coronaviridae*, semelhante ao coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV), o primeiro representante dessa família a ser detectado infectando humanos, e o coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV)^{2,3,4}. O SARS-CoV causou entre 2002-2003 um surto de infecções iniciado também na China, que se disseminou por outros países, enquanto o MERS-CoV foi detectado inicialmente em 2012, na Arábia Saudita, e foi transmitido em outros países através de viajantes infectados³.

Diante disto, o patógeno causador das novas infecções foi denominado como SARS-CoV-2 e a doença descrita como COVID-19 (do inglês, *coronavirus disease 2019*)^{1,4}. O diagnóstico inicial dos casos suspeitos era realizado com base em características clínicas, exames de imagem e pela detecção de agentes infecciosos envolvidos em doenças respiratórias¹. Inicialmente, a investigação era direcionada para identificação de patógenos comumente detectados em casos de pneumonia e a não detecção de nenhum destes, direcionava o diagnóstico para inclusão de outros critérios que abrangessem outros agentes infecciosos. Após as epidemias causadas por SARS-CoV e MERS-CoV, a OMS estabeleceu critérios com base nas infecções com estes vírus para rápida detecção de novos casos de infecções, através de um mecanismo de vigilância para pneumonias de etiologia desconhecida⁵.

Apesar da rápida detecção de qual o patógeno causador do novo surto de infecções e atribuição dos tratamentos usados nas epidemias anteriores, o SARS-CoV-2 continuou a se propagar através dos continentes rapidamente, atingido mais países se comparado a SARS-CoV e MERS-CoV, de modo que em março de 2020, a OMS declarou a COVID-19 era uma pandemia⁶.

O SARS-CoV-2 é um coronavírus do gênero Betacoronavírus e sua estrutura é composta por genoma com ácido ribonucleico (RNA) de fita simples em sentido positivo, proteínas não estruturais atuantes nos processos de replicação e montagem do vírus, proteínas acessórias, além de quatro glicoproteínas estruturais principais, a Spike (S), de Envelope (E), do Nucleocapsídeo (N) e de Membrana/Matriz (M)⁷⁻⁹. Apesar da glicoproteína M ser a mais abundante dentre as quatro e estar envolvida na produção das partículas virais mediante interação com a proteína N, o vírus interage com os receptores das células hospedeiras através da proteína S⁷⁻⁹.

Assim como o SARS-CoV, o SARS-CoV-2 também interage com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), abundante nos pulmões, vasos sanguíneos, intestino e cérebro, usando-a como receptor de entrada, após interação com a protease serina transmembranar 2 (do inglês, *transmembrane serine protease 2* – TMPRSS2), responsável por clivar e ativar a proteína S, como apresentado na Figura 1⁷⁻¹³. Mediante a interação com TMPRSS2, a proteína S torna-se apta a se ligar ao receptor ECA2, de modo que a interface da proteína se divide em dois sítios, S1/S2 e S2^{7-9,14}. A Figura 2 na etapa 1 apresenta a divisão da proteína S, em que subunidade S1 é a responsável por interagir com o receptor de membrana da célula-alvo, o ECA2, enquanto a subunidade S2 ao estar ativa passa por uma mudança de conformação, em que os domínios de repetição do heptad 1 e 2 (do inglês *heptad repeat* – HR, que consistem em uma sequência de sete aminoácidos, em repetição) e os peptídeos de fusão (FP) de membrana ficam expostos, como visto na Figura 2 na etapa 2^{14,15}. A interação entre os domínios HR1 e HR2, forma um feixe composto de seis hélices (6-HB), capaz de aproximar e assim proporcionar a fusão entre as membranas celular e viral, como apresentado na Figura 2 na etapa 3^{8,9,14}. A Figura 3 apresenta que o SARS-

CoV-2 utiliza também do mecanismo de endocitose para adentrar em células hospedeiras. Através da proteína S, o SARS-CoV-2 interage com a membrana celular mediante o receptor ECA2 o que permite que o vírus seja absorvido. Posteriormente, já no endossomo da célula hospedeira, a proteína S do SARS-CoV-2 é ativada ao interagir com a protease captesina-L, permitindo a fusão entre as membranas celular e viral e por consequência, a liberação do material genético viral, para uso da maquinária de replicação celular do hospedeiro^{14,16}.

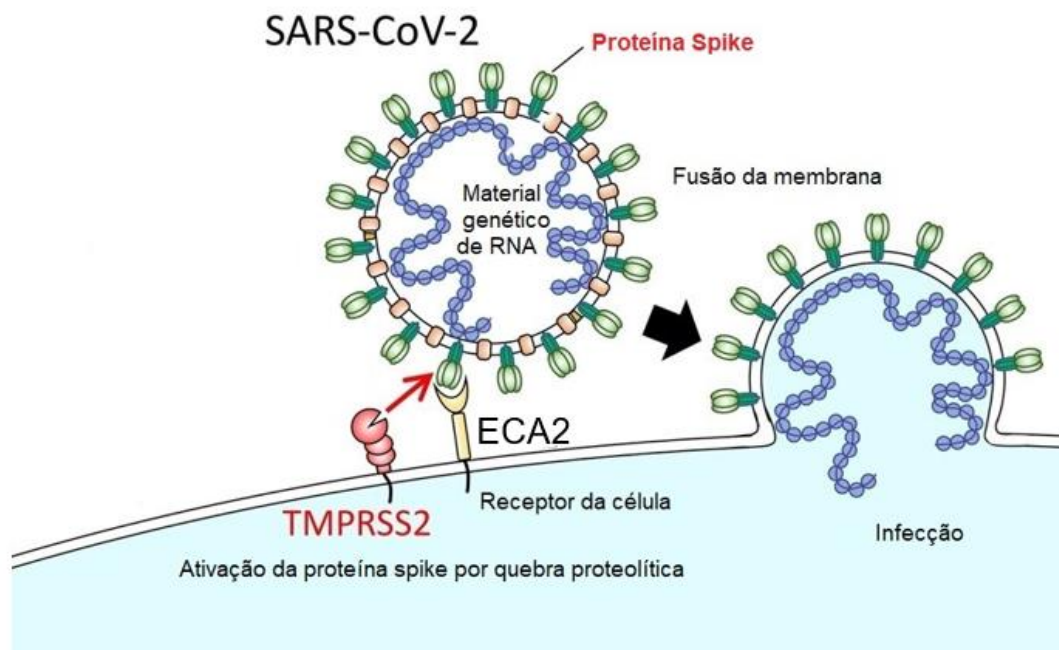


Figura 1: mecanismo de infecção do vírus do SARS-CoV-2 à célula hospedeira, que ocorre após a clivagem e ativação da proteína S mediante interação com TMPRSS2. Em seguida, a proteína S é capaz de interagir com o receptor ECA2, possibilitando a fusão das membranas, viral e da célula hospedeira. Adaptada de Jun-ichiro Inoue e Mizuki Yamamoto, Universidade de Tóquio, 2020.

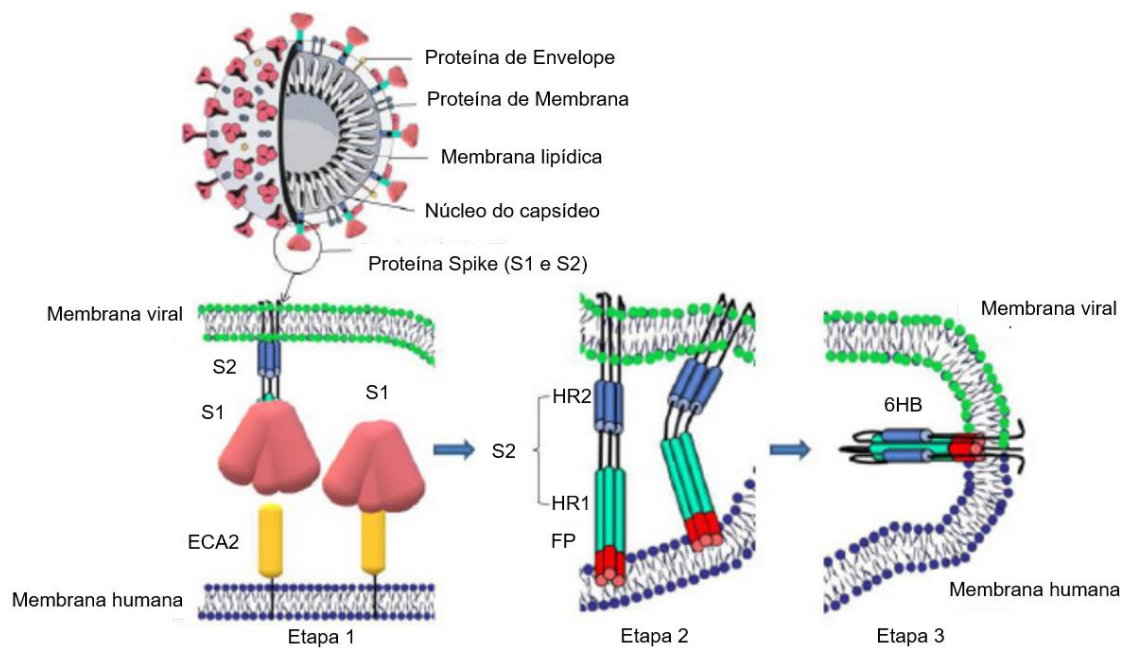


Figura 2: mecanismo de interação da proteína S do vírus do SARS-CoV-2 com as membranas da célula hospedeira e exposição dos domínios HR1 e HR2, que formam o feixe 6HB e aproxima a membrana viral com a membrana da célula hospedeira, promovendo a entrada do vírus e infecção. Adaptada de Costa Lima, Silva de Sousa e Batista Lima. J. Health. Biol. Sci, 2020.

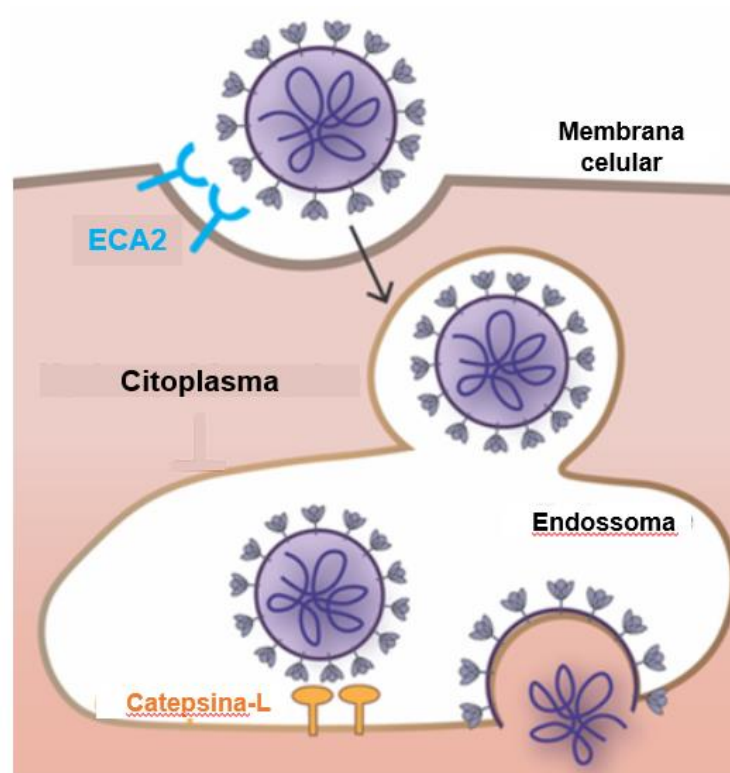


Figura 3: mecanismo de absorção do vírus do SARS-CoV-2 pela célula hospedeira mediante endocitose e ativação da proteína S através de interação com a protease catepsina-L. Adaptada de Tianling Ou, *et. al.* Plos Pathogens, 2021.

1.2 SARS-CoV-2: surgimento de novas variantes

Com o decorrer da pandemia o SARS-CoV-2 passou por mutações que acarretaram no surgimento de novas variantes, que rapidamente disseminaram-se pelos continentes através de viajantes infectados. Além da variante original, de Wuhan-hu-1 (Wu), diferentes variantes de preocupação (do inglês, *variants of concern* – VOC, sendo o vírus do SARS-CoV-2 com alterações responsáveis por afetar o comportamento viral e/ou seu impacto potencial causado na saúde humana, podendo ainda causar mudança prejudicial na gravidade da doença OU diminuir significativamente a eficácia dos imunizantes disponíveis contra os casos graves da doença OU causar impacto substancial na capacidade de fornecer atendimento aos pacientes com COVID-19 ou outras doenças graves, pelos sistemas de saúde) foram identificadas, tais como a Alfa, Beta, Gama, Delta e Ômicron, sendo as duas últimas responsáveis pelo segundo e terceiro picos de infecções a nível mundial, respectivamente¹⁷. As mutações foram identificadas ao longo do tempo em diferentes continentes e rapidamente se espalharam, assim como foram sendo identificadas novas subvariantes. Em maio de 2024, a OMS designou como variantes sob monitoramento (do inglês, *variants under monitoring* - VUMs), ou seja, que podem exigir prioridade quanto à atenção destinada, as subvariantes JN.1.7 e JN.1.18, descendentes da variante Pirola (BA.2.86) e as subvariantes KP.2 e KP.3, descendentes da JN.113.¹⁸. Atualmente no Brasil, o Ministério da Saúde reportou que predominantemente encontramos as subvariantes JN.1 e JN.3, também descendentes da variante Pirola e XBB.1.5, subvariante da Ômicron, respectivamente¹⁹.

As principais mutações encontradas nas VOCs ocorrem por alterações na sequência de aminoácidos que constituem a proteína Spike, principalmente no receptor do domínio de ligação (do inglês, *receptor binding domain* – RBD)²⁰. Estas substituições alteram a conformação da proteína em relação à cepa ancestral, de modo que asseguram às VOCs maior afinidade

de ligação ao receptor do hospedeiro, o ECA2, ou em menor afinidade nas ligações com anticorpos neutralizantes, por exemplo²⁰. Além disso, estas mutações conferem resistência à resposta imune tanto oriunda de células T, quanto a neutralização por anticorpos, resultando em redução na eficácia vacinal, maior velocidade de replicação do vírus, proporcionando ao vírus maior taxa de transmissão e patogenicidade, além da redução na sensibilidade aos anticorpos neutralizantes, por exemplo¹⁵.

1.3 Pandemia da COVID-19: casos e óbitos

A cada nova variante ou subvariante identificada no decorrer da pandemia, observava-se que as mutações adquiridas interferiam na transmissibilidade e patogenicidade das mesmas, de modo que picos com maior quantitativo de infecções e óbitos ocorreram em intervalos de tempo distintos.

Em uma linha evolutiva da pandemia, a OMS informa que ao final do ano de 2020 haviam sido contabilizados no mundo cerca de 84,6 milhões de casos confirmados dos quais 1,98 milhão evoluíram a óbito^{21,22}. Em 2021, 206 milhões de novos casos foram confirmados e mais 3,47 milhões de óbitos registrados^{21,22}. O ano de 2022 contabilizou um novo recorde de casos diagnosticados, com mais 440.8 milhões e mais 1,3 milhão de óbitos^{21,22}. Até dezembro de 2023 foram contabilizados mais 42,2 milhões de novos casos diagnosticados, dentre eles, 301 mil evoluíram a óbito, registrando um total de 772 milhões de casos de COVID-19 em todo planeta, dentre os quais mais de 6,9 milhões evoluíram a óbito^{17,23}.

Segundo dados reportados pela OMS, até o início de abril de 2024, quase 257 mil novos casos de COVID-19 foram detectados no mundo, e mais de 3.7 mil novos óbitos desencadeados por infecções com SARS-CoV-2

foram relatados, demonstrando que a manutenção da vigilância epidemiológica ainda é importante.

1.3.1 Pandemia da COVID-19 no Brasil: casos e óbitos

No Brasil, o primeiro caso confirmado de COVID-19 foi registrado em 26 de fevereiro de 2020²⁴. Em julho de 2020, período em que o isolamento social já estava estabelecido, foram registrados quase 70 mil novos casos e, conforme houve evolução da pandemia e identificação de novas variantes, ocorreram novos picos de casos confirmados e óbitos registrados²⁵. Como observado em outros países, apenas medidas de proteção e isolamento não foram suficientes para controlar totalmente a transmissão do SARS-CoV-2 e, na primeira dezena de janeiro de 2021, período anterior ao início da vacinação, a quantidade de novos casos por dia ficou próxima a 90 mil e o país atingiu a marca de oito milhões de casos, com mais de 6 mil óbitos por semana e mais de 212 mil óbitos acumulados^{25,26}. Até o final de 2021 haviam sido notificados às autoridades mais de 22 milhões de casos confirmados e 619 mil óbitos²⁶.

Em fevereiro de 2022, a onda de infecção pela variante Ômicron gerou quase 300 mil casos positivos no Brasil e, até o final daquele ano havia acumulado mais de 36 milhões de casos confirmados e 693 mil óbitos^{25,26}. Até o final de maio de 2024, mais de 38 milhões de casos positivos para COVID-19 haviam sido diagnosticados e mais de 712 mil óbitos em decorrência da doença, de modo que o Brasil atualmente ainda é o 6º país com maior quantitativo de casos e o 2º com mais registro de óbitos^{21,22,27}.

Por sua vez, o Distrito Federal (DF) confirmou o primeiro caso de COVID-19 em 05 de março de 2020²⁸. Semelhante ao observado no país, o número de casos confirmados e óbitos foram aumentando com o decorrer da pandemia. Atualmente o DF acumula mais de 945 mil casos confirmados e 12

mil óbitos, dos quais 99 casos foram detectados na última semana de maio de 2024, sem registros de óbitos no mesmo período²⁷.

1.4 Imunizantes contra SARS-CoV-2 e sua distribuição

O avanço nas confirmações de casos e registro de óbitos mostraram a urgência em desenvolver e aprovar ferramentas eficazes para prevenir e/ou tratar a COVID-19.

Assim, com o esclarecimento do mecanismo do processo infeccioso do SARS-CoV-2, cientistas ao redor do mundo dedicaram-se a desenvolver e/ou reposicionar fármacos que fossem eficazes contra a doença, além do desenvolvimento de vacinas. Tais buscas por alvos terapêuticos em escala mundial foram necessárias para que a evolução da doença (alterações fisiopatológicas que poderiam levar à síndrome inflamatória multissistêmica) fosse evitada e neste estudo trataremos apenas das vacinas desenvolvidas para COVID-19

Sabendo-se da importância e atuação da proteína S no processo de infecção e da ausência de antivirais para o tratamento específico de infecções pelos coronavírus, as pesquisas para o desenvolvimento de produtos que inativassem a capacidade de interação dessa nos receptores ECA2 se aprimoraram e, devido a estudos iniciados em decorrência das epidemias de SARS-CoV e MERS-CoV, em menos de dois anos foram produzidos imunizantes com segurança e eficácia testada, inclusive em estudos de fase III^{3,4,7,12,29}. Dentre os diversos imunizantes produzidos, foram usadas as plataformas tecnológicas de vírus inativado, de mRNA, de vetores adenovirais, de DNA sintético, com vírus vivo atenuado e por meio de proteína recombinante³⁰. Além disso, a tecnologia de mRNA foi única utilizada na produção de imunizantes monovalentes (que contêm apenas o mRNA de uma variante e bivalentes (que contêm o mRNA de duas variantes do SARS-CoV-2).

Quadro 1: Imunizantes com solicitação de registro no Brasil.

Vírus Inativado			
<u>Mecanismo de ação:</u> estimular o sistema imunológico inato inicialmente, simulando uma infecção e induzir a resposta humoral com produção células responsivas, como anticorpos, contra o patógeno em questão. Também ocorre a indução da resposta celular, com produção de linfócitos B e T, que atuaram como células de memória e células de eliminação das infectadas com o vírus, respectivamente^{15,31,32}.			
<u>Fabricante:</u> Sinovac Biotech/ Butantan	<u>Nome:</u> CoronaVac (variante Wuhan)	<u>Regime Primário:</u> duas doses administradas com intervalo de 14 – 28 dias entre as doses. <u>Dose de reforço:</u> uma dose após	<u>Indicação:</u> Crianças e adolescentes entre 3 – 17 anos de idade; Adultos a partir de 18 anos de idade.
Vetor adenoviral recombinante			
<u>Mecanismo de ação:</u> estimular o sistema imunológico e assim a produção de anticorpos e demais células de defesa através do contato com a proteína S do SARS-CoV-2, que é carregada por vetor viral atenuado capazes de codificar e entregar o material genético do agente infeccioso, podendo ser utilizado um adenovírus de chimpanzé a exemplo da vacina ChAdOx1-S e o adenovírus humano (Ad.26) a exemplo da vacina Janssen³³.			
<u>Fabricante:</u> Oxford/ FioCruz	<u>Nome:</u> Vaxzeria (AstraZeneca) (variante Wuhan)	<u>Regime Primário (RP):</u> duas doses administradas com intervalo de 90 dias entre as doses. <u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 180 dias pós RP ou 1º reforço.	<u>Indicação:</u> Adultos a partir de 18 anos de idade.
<u>Fabricante:</u>	<u>Nome:</u> Janssen	<u>Regime Primário:</u> dose única. Uma dose adicional	<u>Indicação:</u>

Johnson & Johnson Innovative Medicine	(variante Wuhan)	de reforço pode ser administrada 60 dias após a anterior. <u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 180 dias pós RP ou reforço anterior.	Adultos a partir de 18 anos de idade.
mRNA sintético			
<u>Mecanismo de ação:</u> através de nanopartículas lipídicas, o mRNA da proteína S do SARS-CoV-2 é inoculado nos indivíduos estimulando nossas células a produzirem uma parte inofensiva do vírus (não ocorrendo as demais etapas de uma infecção natural), induzindo o sistema imunológico a produzir anticorpos e demais células (linfócitos TCD8+ e Th1, por exemplo) de defesa contra neste caso, a proteína S do SARS-CoV-2. Com isso, em possíveis futuras infecções, o organismo estará apto a produzir as células de defesa necessárias para combater o agente infecciosos ^{33,34} .			
<u>Fabricante:</u> Pfizer/ BioNTech	<u>Nome:</u> Comirnaty (variante Wuhan)	<u>Regime Primário (RP):</u> duas doses administradas com intervalo de 21 dias entre as doses. <u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 180 dias pós RP ou reforço anterior.	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de seis meses de idade.
<u>Fabricante:</u> Pfizer	<u>Nome:</u> Comirnaty Bivalente BA.1 (variantes Wuhan + Ômicron BA.1)	<u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 90 dias pós RP ou reforço anterior.	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de 12 anos de idade.
<u>Fabricante:</u> Pfizer	<u>Nome:</u> Comirnaty Bivalente BA.4/BA.5 (variantes	<u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 90 dias pós RP ou reforço anterior.	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de seis meses de idade

	Ômicron BA.4 e BA.5)		
<u>Fabricante:</u> Pfizer/ Wyeth	<u>Nome:</u> Comirnaty (variante XBB.1.5)	<u>Regime Primário (RP):</u> dose única a partir de cinco anos de idade; Três doses, sendo duas doses administradas com intervalo de 21 dias e a terceira com intervalo de 56 dias após a dose anterior – para crianças de seis meses a quatro anos de idade. <u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada a partir de 90 dias pós RP ou reforço anterior para crianças a partir de seis meses de idade.	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de seis meses de idade.
<u>Fabricante:</u> Moderna/ Adium	<u>Nome:</u> SpikeVax (variante XBB.1.5)	<u>Regime Primário (RP):</u> Crianças de seis meses à quatro anos sem histórico de vacinação ou infecção – duas doses administradas com intervalo de 28 dias entre as doses; Crianças de seis meses a quatro anos com histórico de vacinação ou infecção – uma dose administrada com intervalo de 90 dias pós a última dose de vacina COVID-19;	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de seis meses de idade.

		Crianças a partir de cinco anos: dose única. <u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada com intervalo de 90 dias pós RP ou reforço anterior, para adultos >65 anos de idade.	
<u>Fabricante:</u> Moderna/ Adium	<u>Nome:</u> SpikeVax Bivalente (variante Wuhan + variante Ômicron)	<u>Dose de reforço:</u> uma dose administrada.	<u>Indicação:</u> Pessoas a partir de seis anos de idade.

Adaptado Anvisa³⁵.

Como a pandemia de COVID-19 afetou todos os países, a OMS e as organizações *Coalition for Epidemic Preparedness Innovations* (CEPI), *Gavi* e *Vaccine Alliance* adotaram uma estratégia de distribuição de vacinas visando a equidade na distribuição de doses ao redor do mundo, criando o consórcio COVAX Facility^{36,37}.

Considerando que a proteína S é a partícula mais imunogênica e que a infecção por SARS-CoV-2 ocorre a partir da interação desta com a enzima ECA2 das células-alvo, três das quatro plataformas vacinais que foram inicialmente disponibilizadas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) no Brasil foram desenvolvidas com componentes dessa proteína em sua composição^{15,30}. Além disso, algumas modificações que assegurassem a estabilidade das vacinas BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) e Ad.26.COV2.S (Janssen) por maior período para a conformação de pré-fusão foram realizadas, permitindo que o domínio RBD estivesse exposto, o que facilitaria a interação do anticorpo neutralizante com o vírus^{31,38,39}.

No Brasil, as vacinas adotadas foram CoronaVac, ChAdOx1-S (AstraZeneca), BNT162b2 e Ad.26.COV2.S. A primeira a ser utilizada foi a

CoronaVac, que recebeu autorização para uso emergencial pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) em janeiro de 2021^{12,40}.

Em seguida, a Anvisa também autorizou para uso emergencial a vacina ChAdOx1-S. Posteriormente, houve a ampliação dos imunizantes disponibilizados no Brasil e, apesar de já estar em uso em outros países, a aprovação do registro da vacina BNT162b2 ocorreu somente no final de fevereiro de 2021⁴¹. O último imunizante monovalente a ser aprovado pela Anvisa no ano de 2021 foi o Ad.26.COV2.S, com plataforma vacinal de vetor viral não recombinante^{12,30,40}. Atualmente, possuem registro definitivo no Brasil os imunizantes: ChAdOx1-S, BNT162b2, Ad.26.COV2.S, Comirnaty, Comirnaty Bivalente BA.4/BA.5, Vacina COVID-19 (recombinante), SpikeVax e SpikeVax Bivalente. As vacinas bivalentes chegaram ao Brasil somente no final de 2022, sendo a primeira a receber um registro emergencial a Comirnaty Bivalente BA.1, a qual foi substituída pela Comirnaty Bivalente BA.4/BA.5. Em 26 de junho de 2024, a SpikeVax Bivalente conseguiu a aprovação e registro no país³⁵.

Em novembro de 2023 a OMS informou que cerca de 13,6 bilhões de vacinas já haviam sido administradas no mundo e pelo menos 67% da população havia completado o regime primário, com a China sendo o país com maior quantitativo de imunizados com esse esquema, cerca de 1,3 bilhão de pessoas¹⁷. No Brasil, em maio de 2024 mais de 519 milhões de doses de vacinas monovalentes e cerca de 36,6 milhões de doses bivalentes haviam sido administradas⁴². Nesse mesmo mês, 84,5% da população brasileira havia completado o regime primário de vacinação, enquanto 53,3% haviam se vacinado com o primeiro reforço e 17,7% com o segundo reforço⁴³. Neste mesmo período, a população do DF apresentava 95,6% de indivíduos vacinados com o regime primário, enquanto 61,0% receberam o primeiro reforço e 21,4% o segundo reforço, sendo a população com maior porcentagem de imunizados com o regime primário do país⁴³. Dentre os outros estados da Região Centro-oeste, o DF possui as maiores taxas de imunizados com o regime primário, primeiro e segundo reforços⁴³.

Os profissionais da saúde ainda compõem o grupo com maior quantitativo de doses vacinais administradas, desconsiderando o quesito faixa etária, que também é um tipo de classificação para prioridade na vacinação, com mais de 50 milhões de doses monovalentes recebidas e quase três milhões de doses bivalentes⁴².

A vacinação no Brasil foi inicialmente indicada com o regime primário, que contemplava a administração de duas doses do mesmo imunizante mediante os intervalos estabelecidos por cada fabricante, sendo de 28 dias para CoronaVac, 28 a 90 dias para ChAdOx1-S e 21 dias para BNT162b2¹². Posteriormente, foram indicadas a administração do primeiro reforço com um imunizante diferente dos administrados anteriormente ainda em 2021 para os indivíduos que já tivessem completado o regime primário e segundo reforço em 2022, após pelo menos 180 dias do reforço anterior^{44,45}. Com a indicação de imunização com a vacina Comirnaty Bivalente, todas as pessoas que já haviam completado ao menos o regime primário estavam aptas a receberem uma dose bivalente.

1.4.1 Análise da eficácia e segurança dos imunizantes contra SARS-CoV-2 em estudos de fase II e III

A eficácia das vacinas em estudos de fase III variou entre 50% a 85% na prevenção de infecções por SARS-CoV-2 e de até 95% no desfecho de óbito relacionado à COVID-19 em pessoas que receberam o regime primário, considerando a variante original^{12,46,47}. Esses valores mudaram de acordo com a plataforma tecnológica utilizada no desenvolvimento do imunizante, na quantidade de doses recebidas e o intervalo de tempo após administração destas, sendo demonstrado que as vacinas com melhor eficácia foram aquelas com a plataforma de mRNA (95%), de vetores virais (>62% - 76%) e vírus inativado (>50%)^{12,29,30,34,46,48,49}. É importante pontuar que características genéticas e geográficas também inferem divergências desses

índices³⁰. No Brasil, os estudos com CoronaVac demonstraram que a eficácia da vacina na nossa população foi de 50,7%, já a vacina ChAdOx1-S teve uma eficácia de 62,1% após a vacinação com duas doses e a de vetor viral não recombinante eficácia de 76,7%^{12,30,33,40,49}.

Além disso, é sabido que a soroconversão dos anticorpos anti-RBD ocorre a partir de 14 dias após a administração de cada dose, e o início observado de declínio na quantidade de anticorpos, após 90 dias, progredindo com 180 e 240 dias após imunização com as vacinas COVID-19^{29,50}. Atrelado ao declínio natural dos anticorpos e consequente redução da eficácia preventiva obtida em decorrência das vacinas, as novas variantes conseguiram realizar o escape viral do SARS-CoV-2 em decorrência de suas mutações, culminando em cepas mais transmissíveis e/ou virulentas^{15,51,52}. Esses eventos promoveram o surgimento das novas ondas de infecções ao redor do mundo. Entretanto, apesar do aumento das taxas de transmissão, os índices de internação hospitalar de casos graves com necessidade de suporte ventilatório e evolução a óbito nos indivíduos que completaram ao menos o regime primário, não ocorreu na mesma proporção comparado com o período antecessor à vacinação, o que afere a importância e manutenção da eficácia vacinal^{17,23,27}.

Em meta-análise publicada por Fan e cols. (2021)⁵³, foram incluídos 12 ensaios de fase III com as vacinas BNT162b2, Ad.26.COV2.S e ChAdOx1-S, com populações acima de oito mil indivíduos da América do Sul e Central, África do Sul, Reino Unido, Rússia, Estados Unidos, Israel e Emirados Árabes. Para compor a amostra de participantes, foram priorizados grupos de risco e as avaliações ocorreram após aplicação de duas doses de cada imunizante, correspondendo ao regime primário completo, com comparação da eficácia e segurança após o recebimento de cada dose⁵³. Estes autores observaram que, comparando com o grupo de indivíduos não vacinados, indivíduos que receberam duas doses das vacinas COVID-19 garantiram proteção de até 89% contra casos sintomáticos e 66% para assintomáticos, sendo que o risco de infecção com SARS-CoV-2 após a primeira dose é 2,5 vezes maior que após o recebimento da segunda dose⁵³. Em relação ao risco de evolução a

estados clínicos mais graves e desfecho com óbito, eles observaram uma taxa de risco de 0,08 e 0,14 para necessidade de hospitalização e óbito, respectivamente. A ocorrência de eventos supostamente atribuíveis à vacinação ou imunização (ESAVI) também foi analisada e os eventos classificados em locais (afecções dos tecidos cutâneo e subcutâneo) e sistêmicos (doenças musculoesqueléticas, renais, hepáticas, gastrointestinais, dos sistemas nervoso, linfático e sanguíneo, cardiopatias, por exemplo), demonstrando que as vacinas de mRNA apresentaram maior risco de promover ESAVI, comparado às demais⁵³.

Apesar dos relatos de ESAVI tanto locais quanto sistêmicos⁵², Fiolet e cols. (2022)¹², Fan e cols. (2021)⁵³ concluem que o fator protetor da vacina contra infecções se sobrepõe à novas infecções que possam evoluir com agravamento clínico, fazendo-se necessário o seguimento na vacinação em massa, mantendo a vigilância para ESAVIs e tempo de resposta, principalmente após o surgimento das variantes com maior taxa de transmissibilidade e infecção^{12,53}.

Fiolet e cols. (2022)¹² relataram que estudos de fase III que incluíram a variante Delta, os imunizantes BNT162b2, ChAdOx1-S, Ad.26.COV2.S e CoronaVac mantiveram eficácia de 47-88% contra infecções sintomáticas e de 42-84%, contra infecções assintomáticas causadas pela mesma variante¹². Ao avaliar a eficácia destes imunizantes contra casos que evoluíram para hospitalização e óbito, as vacinas BNT162b2, Ad.26.COV2.S, CoronaVac e ChAdOx1-S apresentaram eficácia entre 60-96%¹².

Mesmo havendo declínio na quantidade de anticorpos anti-RBD e da eficácia, que também decresce (atinge até 57% em um intervalo entre 120 – 180 dias pós-vacinação), os estudos de fase III apresentavam que a proteção contra infecções com SARS-CoV-2 era observada por até seis meses após vacinação¹². Estudos *in vitro* avaliando a proteção contra a Ômicron com amostras de indivíduos que receberam regime primário e primeiro reforço, demonstraram que as vacinas BNT162b2 e ChAdOx1-S têm redução de soroneutralização de 37 e 21 vezes, respectivamente, confirmando que somente doses de reforço monovalentes não seriam suficientes para conter

novas variantes e subvariantes⁵⁴. Visando impedir a redução de soroneutralização observada com o reforço monovalente, foram desenvolvidas as vacinas bivalentes. Tantas alterações nas variantes virais expuseram a necessidade de avaliar o real impacto das mutações na eficácia das vacinas já disponibilizadas. De fato, a literatura mostra que houve redução na eficácia das vacinas monovalentes contra as novas variantes de SARS-CoV-2¹². Assim, com o intuito de reestabelecer uma eficácia mais elevada contra as novas variantes, principalmente a Ômicron, as vacinas de mRNA passaram por uma atualização em sua plataforma⁵⁵. Essa atualização incluiu no imunizante, que continha somente mRNA da proteína Spike da variante original, o mRNA da Spike da variante Ômicron, produzindo as vacinas bivalentes⁵⁵. Dessa forma, a Anvisa em novembro de 2022 aprovou o uso emergencial do imunizante bivalente composto pelas cepas original mais BA.1 e/ou BA.4/BA.5 para administração como doses de reforço⁵⁶. Até a aprovação das vacinas bivalentes no Brasil, as doses de reforço eram realizadas somente com vacinas monovalentes, sendo gradualmente substituídas pelas bivalentes. Em 2024 novas atualizações no calendário vacinal brasileiro foram realizadas e a Anvisa aprovou em março do mesmo ano o registro definitivo da vacina Spikevax monovalente (Moderna), com tecnologia de mRNA, que é composta com a subvariante XBB.1.5¹⁹.

Com a aprovação da vacina monovalente SpikeVax, o calendário vacinal agora é indicado com regime primário com este imunizante⁵⁷. As doses de reforço também passaram a ser indicadas com SpikeVax, para os grupos de indivíduos com prioridade para vacinação, dentre eles pessoas a partir de 60 anos, profissionais de saúde, indígenas, pessoas com deficiência e/ou comorbidades, ribeirinhos, quilombolas, gestantes, entre outros⁵⁷. Pessoas imunocomprometidas e menores de cinco anos de idade tem indicação de receber uma e duas doses de reforço com SpikeVax, respectivamente⁵⁷.

Segundo a literatura, a imunidade híbrida (aquela adquirida pós infecção e vacinação) sugere maior proteção por produzir anticorpos mediante ambos os estímulos, proporcionando uma maior quantificação de anticorpos

neutralizantes⁴⁸. Cameroni e cols. (2021)⁵⁴ ao avaliarem a soroneutralização e a sua taxa de declínio, observaram que mesmo contra a variante Ômicron, as vacinas ainda apresentam efeito de neutralização, ocorrendo na imunidade híbrida a menor redução quantificada de anticorpos comparada a indivíduos sem histórico de infecção e sem vacinação com dose de reforço⁵⁴.

Somados, estes dados mostram que mesmo com o declínio na imunogenicidade, que ocorreu independentemente da exposição ao SARS-CoV-2, a administração de ao menos uma dose vacinal em indivíduos com histórico prévio de infecção ou do primeiro reforço em indivíduos vacinados e sem histórico de infecção, reestabelece os níveis de proteção àqueles obtidos inicialmente⁴⁸. Ao avaliar administração do segundo reforço, realizado quatro meses após o primeiro reforço, foi demonstrado que o segundo reforço promoveu aumento sutil na produção de anticorpos quando comparado ao primeiro, e que a eficácia contra a Ômicron se manteve acima de 78% para o imunizante BNT162b2⁵⁸. Mesmo os imunizantes apresentando eficácia superior a 70% contra a Ômicron, a queda na titulação de anticorpos neutralizantes e aumento de mutações com surgimento de variantes, expõem a necessidade de atualizações nas vacinas^{50,59,60}.

Como a qualidade da resposta imunológica produzida após a vacinação sofre interferência de fatores intrínsecos aos indivíduos, extrínsecos, ambientais e da própria vacina, os quais podem modular a resposta apresentada pelo indivíduo pós-vacinação, há a necessidade em se continuar avaliações que quantifiquem e qualifiquem a imunogenicidade produzida pelas vacinas, para que se conheça a duração da proteção contra o patógeno, bem como qual o intervalo necessário para administração de doses de reforço, se necessário⁶¹.

1.4.2 Análise da efetividade e segurança dos imunizantes contra SARS-CoV-2 em estudos de fase IV

As atualizações dos imunizantes com tecnologia de mRNA e no calendário vacinal brasileiro foram possíveis mediante as observações realizadas nos estudos clínicos de fase III e IV. Esse último é chamado de estudo em mundo real por não ser mais realizado em ambientes controlados. A realização de estudos de fase IV é importante para manutenção da vigilância epidemiológica pelas autoridades competentes em populações mais abrangentes do que as incluídas nos estudos das fases anteriores, considerando suas distintas características genéticas e étnico-raciais.

Como exemplo deste tipo de estudo, Tang e cols. (2023)⁶² realizou na província chinesa de Jiangsu, um ensaio multicêntrico em que a coorte foi composta por 356 participantes, com o intuito de avaliar a segurança e imunogenicidade de três imunizantes COVID-19: dois de administração intramuscular e um aerossolizado, como segundo reforço, considerando ainda o quesito de não-inferioridade entre as vacinas.

Enquanto isso, no Brasil, um dos estudos de fase IV que está em desenvolvimento é o estudo “Efetividade e segurança das vacinas COVID-19 distribuídas pelo Programa Nacional de Imunização: estudo de coorte multicêntrico em profissionais de saúde de instituições hospitalares (SEVACoV-PRO)”, para análise da efetividade, segurança e imunogenicidade das vacinas COVID-19, dentro da população brasileira. Essa população foi escolhida em função dos profissionais de saúde constituírem os serviços considerados essenciais, de modo que compuseram uma das classes de trabalhadores que mantiveram suas atividades laborais durante a pandemia, atuando na linha de frente em cuidados assistenciais aos infectados. Isto possibilitou que estes profissionais estivessem em contato com o vírus em maior frequência e expostos a cargas virais mais elevadas, aumentando a probabilidade de infecção com SARS-CoV-2.

O SEVACoV-PRO é uma coorte retrospectiva e prospectiva que dispõe de oito centros de pesquisa distribuídos pelo Brasil, localizados no Distrito Federal, Espírito Santo, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Rio de Janeiro, Rio Grande do Sul e Sergipe, contemplando assim quatro das cinco regiões brasileiras. O estudo foi iniciado em 27 de setembro de 2021 e foram convidados a participar profissionais da saúde vacinados e não vacinados de instituições públicas e privadas para acompanhamento por 36 meses após o recebimento da primeira dose de vacina COVID-19 (vacinados) ou após a data de início da vacinação no Brasil (não vacinados).

A coorte do estudo é de 5.060 participantes que apresentam esquemas vacinais diversificados, tanto no quantitativo de doses, como nos imunizantes recebidos em cada etapa do esquema. A análise de efetividade será realizada mediante diagnóstico comprovado com SARS-CoV-2 em participantes vacinados, com obtenção de dados sobre a infecção, incluindo tipo de teste realizado, resultado contido no laudo e classificação de gravidade do caso. As avaliações de imunogenicidade do estudo serão feitas a partir da coleta de amostra sanguínea nas visitas realizadas pelo participante aos centros de pesquisa, nas quais foram quantificados os níveis de anticorpos anti-S RBD. A análise de segurança será feita através do preenchimento de questionários com informações sobre eventos adversos após o recebimento do regime primário e doses de reforço.

Diante disto, o presente estudo irá analisar uma subamostra dos participantes da coorte SEVACoV-PRO acompanhada no centro de pesquisa localizado no Distrito Federal pelo período de até 30 meses, avaliando a imunogenicidade em profissionais de saúde não vacinados ou vacinados com as vacinas COVID-19 disponibilizadas pelo PNI. Os dados obtidos com as análises realizadas neste estudo de fase IV permitirão avaliar se as doses de reforço heterólogas elevaram a imunogenicidade dos participantes mais do que a realização do regime primário, mesmo em indivíduos com histórico de infecção com SARS-CoV-2.

JUSTIFICATIVA

2 Justificativa

A pandemia de COVID-19 iniciada em 2020 em função da infecção por SARS-CoV-2, impôs a necessidade de mudança dos comportamentos sociais e individuais. Para o mundo globalizado em que vivemos atualmente, readaptar-se e viver em isolamento social, com manutenção somente de serviços essenciais foi uma ação necessária no intuito de frear a disseminação do vírus, apresentando resultados positivos. No entanto, isto causou inúmeras consequências, sociais, psicológicas e financeiras. Apesar das medidas protetivas individuais e coletivas, bem como isolamento social terem reduzido a taxa de transmissão, ações mais eficazes para diminuição da propagação, ainda se faziam necessárias. A urgência no desenvolvimento de imunizantes para proteção, declínio na taxa de transmissão e gravidade da doença tornava-se cada vez mais explícita, bem como de medicamentos para o tratamento e cura dos infectados.

O avanço tecnológico nas áreas da ciência relacionadas à pandemia associado aos estudos iniciados nas epidemias de SARS e MERS-CoV possibilitou o desenvolvimento de imunizantes em tempo recorde. Em menos de dois anos obtivemos a produção das vacinas COVID-19 em estudos de fase III, podendo assim já serem disponibilizadas à população^{12,29}. Com isso, mesmo após três anos do início da vacinação em massa, ainda se faz necessária a realização dos estudos de fase IV para prosseguimento na avaliação da segurança e da imunogenicidade produzida após a administração destas vacinas em mundo real, que é composto de abrangente variabilidade genética, alto índice de comorbidades, diversidade sociodemográfica, bem como o surgimento de novas variantes oriundas de mutações^{12,23,29,30,52}.

Através destas análises, será possível descrever de modo mais detalhado o comportamento da resposta imunogênica individual. O que

também possibilita conhecer o tempo para declínio na quantidade destas proteínas, permitindo o delineamento do intervalo necessário para recebimento de doses de reforços, fatores estes importantes para as condutas governamentais, sociais e individuais⁶³.

Inúmeros estudos de fase IV estão sendo realizados ao redor do mundo e no Brasil não é diferente. Considerando que mesmo com bilhões de doses dispensadas à população mundial¹⁷ novos picos de contágio ocorreram, é necessária a atualização das plataformas vacinais com a inclusão de variante de preocupação em circulação.

Diante da necessidade de elucidar os mecanismos de proteção contra as variantes de SARS-CoV-2 e a progressão da doença por ele causada, a manutenção da vigilância à resposta imunológica produzida pós vacinação dará suporte para o aprimoramento das plataformas tecnológicas dos imunizantes já desenvolvidos, assegurando a proteção da população com altas taxas de eficácia.

OBJETIVOS

3 Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Analisar a resposta imunológica humoral em profissionais da saúde vacinados ou não com vacinas COVID-19 vinculados às unidades de saúde públicas e privadas do Distrito Federal, participantes do Estudo SEVACoV-PRO.

3.2 Objetivos Secundários

- Descrever as características sociodemográficas e clínicas dos participantes;
- Descrever os dados vacinais da população do estudo;
- Avaliar a produção de anticorpos Imunoglobulina G (IgG) anti-S RBD nos participantes vacinados com os imunizantes distribuídos pelo PNI e nos participantes não vacinados;
- Avaliar o efeito da infecção prévia por COVID-19 na produção de anticorpos IgG anti-S RBD;
- Avaliar a produção de anticorpos IgG anti-S RBD entre grupos estratificados por quantidade de doses recebidas, aplicando a variável de infecção prévia com SARS-CoV-2;
- Comparar a produção de anticorpos IgG anti-S RBD entre grupos estratificados por quantidade de doses e esquema vacinal recebido;
- Analisar falhas vacinais secundárias com avaliação de reinfecções e gravidades após vacinação.

METODOLOGIA

4 Metodologia

4.1 Tipo de estudo

Este é um estudo observacional, do tipo Coorte prospectiva dinâmica, isto é, em que novos participantes podem ser incluídos no estudo mesmo que outros já tenham realizado a primeira visita, com profissionais de saúde vacinados e não vacinados. Os participantes foram acompanhados durante 30 meses após a administração da primeira dose de vacina COVID-19 no grupo 1 (vacinados) e após 17/01/2021 no grupo 2 (não vacinados), quando a vacinação para COVID-19 se iniciou no Brasil.

As visitas dos participantes, bem como o intervalo de tempo entre elas, foram determinadas após a data inicial de cada grupo, sendo 12 meses, 18 meses, 24 e 30 meses após início da vacinação, conforme demonstrado no Quadro 1. O grupo de vacinados foi convidado a realizar duas visitas extras, referente às duas doses de reforço. As visitas extras foram agendadas para que ocorressem no intervalo entre 15-45 dias após a vacinação.

Durante a primeira visita, o voluntário era acolhido pela equipe de entrevistadores para avaliação de elegibilidade, realizando a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e termo de guarda de amostra biológica os que estivessem aptos a participar do estudo. Após finalizar a leitura, o voluntário era convidado a conversar com um dos entrevistadores para esclarecimento de dúvidas que ainda persistissem. Finalizados todos os esclarecimentos, os voluntários que permanecessem interessados em participar do estudo assinavam os documentos, lhe era atribuído um código de identificação e iniciava-se o preenchimento do questionário para coleta de dados sociodemográficos e antropométricos, histórico clínico, dados vacinais, histórico de infecções com SARS-CoV-2 e eventos adversos pós-vacinação. O participante era então direcionado à sala de coleta para que 8 mL de amostra sanguínea fosse coletada. Comprovantes de vínculo empregatício,

comprovantes vacinais e laudos positivos foram anexados ao prontuário do participante. As visitas de seguimento e/ou extra, seguiam o mesmo processo de preenchimento de questionário seguido da coleta da amostra sanguínea.

Quadro 2: Grupo 1 – vacinados

Procedimento	V1	VE 1ºR	VE 2ºR	V2 3m	V3 6m	V4 9m	V5 12m	V6 18m	V7 24 m	V8 30 m
Aplicação TCLE	X									
Questionário de seguimento e coleta sanguínea	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

m = meses após a data referência; Para vacinados essa data é de recebimento da 1ª dose contra COVID-19;

V1 = visita 1; VE 1ºR = visita extra 1º reforço; VE 2ºR = visita extra 2º reforço;

X = visita realizada entre 15 – 45 dias após o recebimento do 1º e/ou 2º reforço

As visitas dos participantes não vacinados, também foram ordenadas após a data inicial do grupo, sendo 12 meses, 18 meses, 24 e 30 meses após início da vacinação no país (17/01/2021), conforme demonstrado no Quadro 2. Todos os procedimentos realizados nas visitas dos participantes do grupo 1 eram realizados com os participantes do grupo 2.

Quadro 3: Grupo 2 – não vacinados

Procedimento	V1	V2 3 m	V3 6 m	V4 9 m	V5 12 m	V6 18 m	V7 24 m	V8 30 m
Aplicação TCLE	X							
Questionário de seguimento e coleta sanguínea	X	X	X	X	X	X	X	X

m = meses após a data referência; Para não vacinados essa data é 17/01/2021 (data da aplicação da primeira vacina COVID-19 no Brasil)

V1 = visita 1

4.2 População do estudo

A população desse estudo foi de profissionais da saúde atuantes em unidades de saúde públicas e/ou privadas do Distrito Federal, maiores de 18 anos de idade, de ambos os sexos, vacinados ou não com os imunizantes disponibilizados pelo PNI para COVID-19, independente de infecção prévia por SARS-CoV-2. O nível de escolaridade exigido incluiu o técnico ou superior e a atuação abrangia serviços assistenciais, administrativos e/ou de ensino e pesquisa. O recrutamento ocorreu através de canais de comunicação institucionais e privados, bem como por busca ativa. O período de recrutamento e inclusão de participantes no estudo foi realizado entre 27/09/2021 à 31/12/2022.

4.2.1 Critérios de inclusão

Foram incluídos no estudo profissionais de saúde com vínculo formal com unidades de saúde públicas ou privadas do Distrito Federal, maiores de 18 anos de idade, que concordaram com os termos do estudo e assinaram o TCLE.

4.2.2 Critérios de exclusão

Foram excluídos os voluntários que haviam sido vacinados para COVID-19 em estudos clínicos de fase II ou III.

4.3 Fontes de dados

Para composição das características sociodemográficas e clínicas foram utilizados os formulários das entrevistas realizadas nas visitas, registrados na plataforma REDCap®. Os dados vacinais foram confirmados através do cartão vacinal, comprovante de vacinação e/ou dados do Sistema de Informação do PNI. O rastreamento de infecções por SARS-CoV-2 foi baseado em autorrelato dos participantes durante as visitas ou contatos telefônicos, e para comprovação das infecções foram aceitos laudos positivos para COVID-19, como testagem por RT-PCR, do inglês *polymerase chain reaction in real time*, teste rápido de antígeno, teste rápido de anticorpos (desde que o laudo positivo fosse anterior ao início da vacinação ou infecção anterior- este tipo de laudo só foi aceito pós-vacinação ou infecção prévia quando o resultado fosse Imunoglobulina M positivo) e autoteste, atestados médicos e/ou exames de imagem.

4.3.1 Quantificação dos níveis de IgG anti-S RBD

A quantificação dos níveis de IgG anti-S RBD foi realizada em amostras de sangue que foram coletadas durante as visitas ao centro de pesquisa. Em cada visita foi coletado 8 mL de sangue em tubo com ativador de coágulo + gel separador, e todas as análises foram feitas no Laboratório de Diagnóstico Molecular, também localizado no Hospital Universitário de Brasília. Ao chegar no laboratório, a amostra foi centrifugada à 3.000 rotações por minuto (rpm) durante 10 minutos para a separação do soro, sendo armazenado em freezer a -80°C até a análise.

A quantificação dos anticorpos foi realizada utilizando-se o kit SARS-CoV-2 IgG II Quant B6S60B (6S60-22), um imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) realizado no equipamento ARCHITECT

i1000sr, ambos da empresa Abbott® (Abbott, EUA). Este ensaio é capaz de determinar de modo quali-quantitativo os anticorpos IgG contra SARS-CoV-2 contidos em soro ou plasma humano. Entretanto, para as análises aqui apresentadas foram utilizados somente dados quantitativos.

O procedimento para realização do ensaio se inicia com o descongelamento de 1mL do soro previamente separado por centrifugação no dia da coleta. Após estar descongelada, a amostra foi homogeneizada em vórtex em baixa velocidade. Então, as amostras foram colocadas no equipamento ARCHITECT i1000sr para realização da incubação da amostra com micropartículas paramagnéticas revestidas de antígeno SARS-CoV-2 e com o diluente contido no kit, ocorrendo a ligação entre anticorpos IgG presentes com as micropartículas. Ainda no equipamento, essa mistura é lavada e, em seguida, é adicionado o conjugado de anticorpos anti-IgG humano marcado com acridínio, voltando à incubação. Faz-se um novo ciclo de lavagem e adiciona-se as soluções *Pre-Trigger* e *Trigger*, também contidas no kit. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades de luz relativas (RLU). A quantidade de anticorpos IgG contra o SARS-CoV-2 na amostra são relativas às RLUs detectadas.

Os resultados foram expressos em unidade arbitrária por mL (UA/mL). A quantificação de anticorpos anti-S RBD com o kit IgG II Quant tem o ponto de corte em 50,0 UA/mL, sendo considerado positivo o resultado igual ou superior. Não houve limiar máximo para detecção na quantidade de anticorpos.

4.4 Análise de dados

Os dados de quantificação dos anticorpos foram apresentados como mediana com intervalos interquartis. Por se tratar de um estudo observacional, e a coorte ao ser estratificada em grupos distintos gerando dados não

paramétricos, utilizamos o teste U de Mann-Whitney para comparar dois grupos e o teste Kruskal-Wallis quando mais de dois grupos eram analisados. A construção dos gráficos, linhas do tempo, cálculo das medianas e testes estatísticos foram realizados no programa GraphPad Prism 9[®] – versão 9.1.2. A significância estatística foi estabelecida em 5% ($p < 0,05$).

4.6 Aspectos éticos

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília e pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) – CAAE: 49561321.0.1001.5558. O TCLE do estudo se encontra no Anexo II.

RESULTADOS

5 Resultados

5.1 População do estudo

A população total do estudo SEVACoV-PRO é de 5.060 participantes, contudo, nesta análise serão apresentados os dados obtidos da população do centro de pesquisa do estudo SEVACoV-PRO situado no Distrito Federal (SEVACoV-PRO DF), totalizando 841 participantes para avaliação. Como descrito na Figura 4, destes participantes, quatro (0,5%) realizaram a coleta correspondente à primeira visita, porém, não retornaram para preenchimento do questionário e se recusaram a continuar no estudo, classificados assim como *missing*. Cinco participantes (0,6%) foram transferidos para outras unidades hospitalares vinculadas à rede Ebserh e, em função do estudo SEVACoV-PRO ser multicêntrico, foram transferidos para os centros situados nos estados do Rio de Janeiro e Minas Gerais.

Com essas perdas, a população final do estudo foi de 832 participantes, dos quais 826 (99,3%) são vacinados e seis (0,7%) são não vacinados. O grupo dos vacinados é dividido conforme a quantidade de doses recebidas pelos participantes e ao completar 30 meses de acompanhamento, 50 (6,0%) permaneciam imunizados somente com regime primário, 191 (23,1%) receberam até o 1º reforço e os demais 583 (70,6%) completaram o esquema vacinal até o 2º reforço. Todos os participantes transferidos e *missing* eram vacinados e seus resultados não entraram nesta análise. Os participantes vacinados têm esquemas vacinais diversificados, predominando o esquema composto de regime primário + primeiro reforço + segundo reforço.

Como o recrutamento foi realizado com a utilização de canais de comunicação institucionais (Intranet) e privados (WhatsApp® - grupo Meta), não foi possível mensurar quantos voluntários em potencial foram notificados.

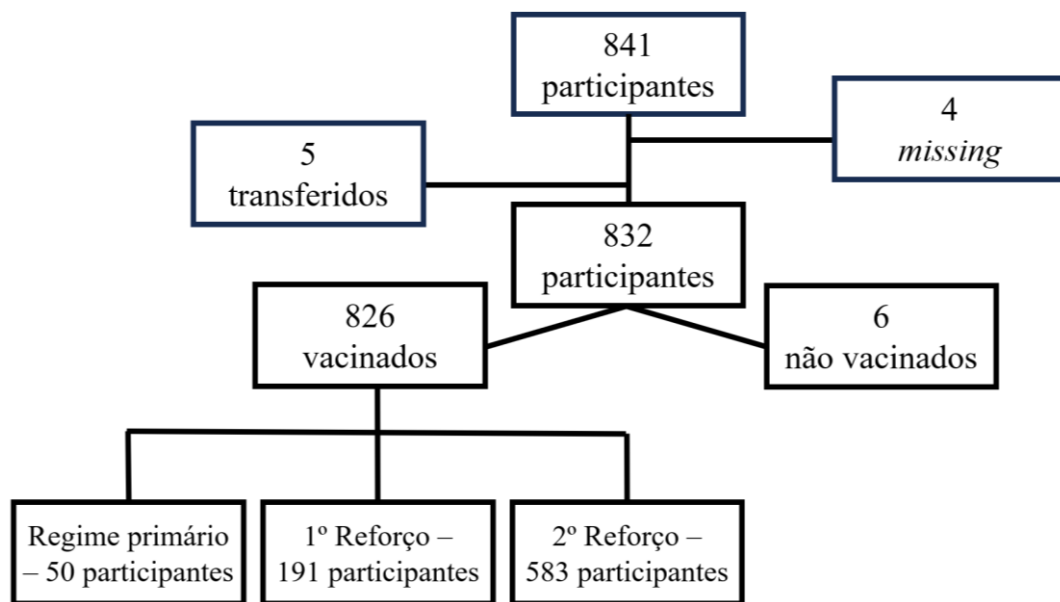


Figura 4: Apresentação da população de estudo. Dentre todos os voluntários em potencial, 841 concordaram com os termos e assinaram o TCLE.

5.2 Dados sociodemográficos e clínicos

Como podemos observar na Tabela 1, a população do estudo é composta em sua maioria por participantes do sexo feminino (81,7%) e adultos na faixa etária entre 40 – 49 anos de idade (34,4%). Os autodeclarados negros (pretos + pardos) são a maior parte do estudo (53,3%), enquanto os autodeclarados brancos compõem 43,2% da população. O nível de escolaridade declarado pela maioria dos participantes foi especialização (44,0%) e os técnicos de enfermagem correspondem a 26,5% da população. Quanto à atividade exercida 92,3% relataram desenvolver atividades do tipo assistencial em seus setores. A renda declarada pela maioria (30,9%) foi de ≥ R\$ 5.000,00 – 10.000,00. O perfil clínico dos participantes demonstra que 59,8% da população não tem diagnóstico de comorbidades, a maioria (89,8%) não é tabagista, 39,5% estão com índice de massa corporal normal e 40,0% com sobrepeso.

Tabela 1: Caracterização dos dados sociodemográficos e clínicos

Variáveis	N (100%)
Sexo	
Feminino	680 (81,7%)
Masculino	152 (18,3%)
Total	832 (100%)
Idade Mediana	
50,47 anos	832 (100%)
Idade	
20 – 29	83 (10,0%)
30 – 39	241 (28,9%)
40 – 49	286 (34,4%)
50 – 59	176 (21,1%)
> 60	46 (5,5%)
Raça/Cor	
Asiática	19 (2,3%)
Branca	360 (43,2%)
Indígena	1 (0,1%)
Negros*	444 (53,3%)

Não informado	8 (0,9%)
Escolaridade	
Curso técnico	117 (14,0%)
Graduação	212 (25,5%)
Especialização	366 (44,0%)
Mestrado/Doutorado	135 (16,2%)
Não informado	2 (0,2%)
Profissão	
Enfermeiro	166 (19,9%)
Farmacêutico	74 (8,9%)
Fisioterapeuta	32 (3,8%)
Médico	147 (17,6%)
Técnico de enfermagem	221 (26,5%)
Outros	192 (23,1%)
Renda	
≤ R\$ 2.000	6 (0,7%)
≥ R\$ 2.000 - 5.000	148 (17,8%)
≥ R\$ 5.000 - 10.000	257 (30,9%)
≥ R\$ 10.000 - 20.000	236 (28,3%)
≥ R\$ 20.000 - 30.000	83 (10,0%)
≥ R\$ 30.000	65 (7,8%)
Não informado	37 (4,4%)
Atividades desenvolvidas**	
Assistencial	768 (92,3%)
Administrativa	113 (13,6%)
Ensino e pesquisa	109 (13,1%)
Comorbidades**	
Nenhuma	498 (59,8%)
Hipertensão	101 (12,1%)
Diabetes	35 (4,2%)
Doença cardíaca crônica	21 (2,5%)
Doença hepática crônica	10 (1,2%)
Doença pulmonar crônica	41 (4,9%)
Doença renal crônica	2 (0,2%)
Doença reumatológica crônica	30 (3,6%)
Neoplasia	18 (2,1%)
Outras [#]	179 (21,5%)
Tabagismo	
Sim	23 (2,7%)
Não	747 (89,8%)
Deixou de ser tabagista	62 (7,4%)
IMC	

Baixo peso	15 (1,8%)
Normal	329 (39,5%)
Sobrepeso	333 (40,0%)
Obeso	154 (18,5%)

*Os participantes apresentados como negros contemplam os que se autodeclararam pardos e pretos.

**Os participantes podiam assinalar mais de um tipo de atividade desenvolvida, assim como ser acometido por mais de uma das comorbidades listadas, fazendo com que a somatória da porcentagem ultrapasse 100%. # Estão incluídas imunodeficiências, transtornos depressivo e de ansiedade e outras doenças crônicas.

5.3 Dados vacinais

A população do estudo foi composta por 826 (99,3%) participantes vacinados e, conforme pode ser observado na tabela 2, 774 (93,7%) destes participantes receberam o primeiro reforço e 583 (70,6%) receberam o segundo reforço. O imunizante CoronaVac foi o mais administrado como regime primário, 689 (83,6%) participantes, visto que esta foi a primeira vacina disponibilizada no Brasil e os profissionais da saúde foram incluídos no grupo prioritário de imunização. No grupo vacinado com o primeiro reforço, 747 (96,5%) dos participantes receberam o imunizante BNT162b2. No segundo reforço houve menor discrepância entre os imunizantes administrados, quando 233 (39,6%) participantes receberam BNT162b2, 191 (32,7%) receberam Ad26.COV2.S e 138 (23,6%) ChAdOx1-S.

Tabela 2: Caracterização dos regimes vacinais

	Participantes 826 (99,3%)	CoronaVac	ChAdOx1-S	BNT162b2	Ad.26.COV2.S
Regime Primário	824 (99,7%)	689 (83,6%)	125 (15,1%)	10 (1,2%)	
1° reforço	774 (93,7%)	10 (1,3%)	11 (1,4%)	747 (96,5%)	6 (0,8%)
2° reforço	583 (70,6 %)	21 (3,6%)	138 (23,6%)	233 (39,6 %)	191 (32,7 %)

Tabela 2: Apresentação do quantitativo de vacinados em cada dose com os imunizantes disponibilizados pelo PNI.

5.4 Avaliação da imunogenicidade

5.4.1 Avaliação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD ao longo do tempo

Para avaliarmos a imunogenicidade induzida pelas vacinas COVID-19 distribuídas pelo PNI, inicialmente separamos a coorte SEVACoV-PRO entre participantes vacinados e não vacinados, possibilitando avaliar os níveis de anti-S RBD nos dois grupos durante os mesmos intervalos de tempo. Diante disto, a produção de anticorpos anti-S RBD dos vacinados (Figura 5A) na primeira visita é 28x maior quando comparado ao dos não vacinados (Figura 5B), com medianas de 8.115,6 UA/mL e 288,4 UA/mL, respectivamente. Mediante a grande diferença entre o número de participantes entre os grupos, não foi possível aplicar testes estatísticos nesta comparação.

Observamos nas comparações entre os vacinados que há diferença estatística entre os resultados das coletas V1 vs. 12 meses após a primeira dose de vacina COVID-19, onde observamos um aumento de 1,7x nos níveis de anti-S RBD (8.115,6 UA/mL vs. 14.267,5 UA/mL); V1 vs. 18 meses em que houve um aumento de até 2x na quantificação de anticorpos (8.115,6 UA/mL vs. 16.274,0 UA/mL) e V1 vs. 24m, resultando em um aumento de 1,5x nos níveis de anti-S RBD (8.115,6 UA/mL vs. 12.602,4 UA/mL). A comparação entre V1 vs. 30m não apresentou diferença estatística.

Ainda na Figura 5A, ao analisarmos os níveis de anticorpos entre as visitas de 12 meses vs. 30 meses observamos que houve um declínio de 1,6x (14.267,5 UA/mL vs. 8.651,8 UA/mL); 18 meses vs. 30 meses o declínio foi de 1,9x (16.274,0 UA/mL vs. 8.651,8 UA/mL) e em 24 meses vs. 30 meses pós-vacinação para COVID-19 (12.602,4 UA/mL vs. 8.651,8 UA/mL), mostra uma redução de até 1,4x na quantidade de anticorpos.

Também foram realizadas as comparações entre os resultados das coletas realizadas: 12 meses vs. 18 meses; 12 meses vs. 24 meses e 18 vs.

24 meses após primeira dose de vacina COVID-19, as quais não apontaram diferenças estatisticamente significativas.

Na Figura 5B observamos que não houve diferença entre os níveis de anticorpos neutralizantes entre os participantes não vacinados no período observado.

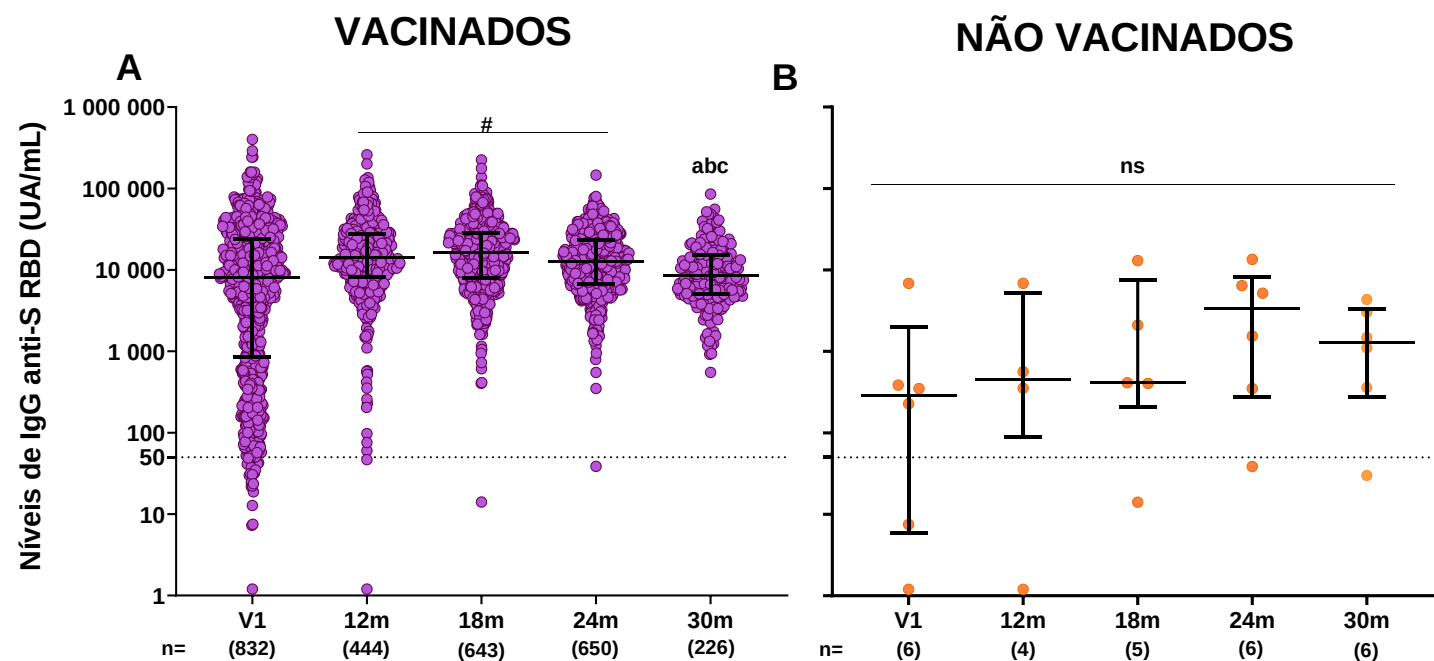


Figura 5: Apresentação dos níveis de anticorpos anti-S RBD no grupo de participantes vacinados (A) e não vacinados (B), nas coletas realizadas na primeira visita (V1), visita de 12 meses (12m), 18 meses (18m), 24 meses (24m) e 30 meses (30m) após a primeira dose das vacinas COVID-19. Os gráficos estão com escala em log10, sendo inserido o valor de corte de 50UA/mL. O número de participantes nas coletas de cada visita está representado entre parênteses abaixo da respectiva visita. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em vacinados:** # - comparação entre V1 vs. 12m; V1 vs. 18m e V1 vs. 24m; a - comparação entre 12m vs. 30m; b - comparação entre 18m vs. 30m; c - comparação entre 24m vs. 30m. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em não vacinados:** ns - não significativo nas comparações entre as visitas.

5.4.2 Avaliação do efeito da infecção com SARS-CoV-2 na produção de anticorpos IgG anti-S RBD

O sistema imunológico é estimulado a produzir anticorpos contra o SARS-CoV-2 mediante contato com o vírus e através de vacinação, e desta forma, avaliamos a produção de anticorpos em participantes com e sem detecção de infecções prévias. Para avaliarmos os níveis de anti-S RBD determinados ao longo de 30 meses após a primeira dose da vacina COVID-19, estratificamos os grupos de vacinados e não vacinados de acordo com o histórico de diagnóstico de COVID-19 em cada uma das visitas, como pode ser observado na Figura 6, nos painéis A e B, respectivamente.

Observamos que dentre os participantes vacinados que nunca foram diagnosticados com COVID-19, os níveis de anti-S RBD são distintos nas comparações entre os resultados das coletas: V1 vs. 12 meses (5.411,2 UA/mL vs. 16.664,3 UA/mL) em que há um aumento de até 3x nos níveis de anticorpos; V1 vs. 18 meses (14.892,4 UA/mL) em que o aumento ainda era de 2,7x e V1 vs. 24 meses após primeira vacina COVID-19 (12.907,4 UA/mL), onde ainda havia uma elevação de 2,4x no período de 24 meses. Também há diferença estatística entre os resultados de 12 meses vs. 30 meses após o início do regime primário para COVID-19 (16.664,3 UA/mL vs. 10.341,9 UA/mL), em que observamos um decréscimo de 1,6x com o decorrer do tempo.

Ao analisarmos o grupo de vacinados com histórico de infecção com SARS-CoV-2, observamos que o resultado de V1 foi distinto somente do obtido na visita realizada 18 meses após a primeira vacina COVID-19, onde observamos um aumento de 1,6x na quantidade de anticorpos (10.026,7 UA/mL vs. 16.442,8 UA/mL). Seguindo a análise destes participantes, os resultados das coletas realizadas: 12 meses vs. 30 meses (12.338,0 UA/mL vs. 8.018,2 UA/mL) apresenta um declínio de 1,5x; 18 meses vs. 24 meses (16.442,8 UA/mL vs. 12.447,0 UA/mL) apresenta declínio de 1,3x; 18 meses vs. 30 meses (16.442,8 UA/mL vs. 8.018,2 UA/mL) ocorre um declínio de 2x;

e 24 meses vs. 30 meses após início da vacinação com imunizantes COVID-19 (12.447,0 UA/mL vs. 8.018,2 UA/mL) em que o declínio na quantidade de anticorpos foi de 1,5x, são diferentes estatisticamente. As comparações feitas entre V1 e 18, 24 e 30 meses, bem como 12 meses *versus*. 18 e 24 meses após primeira vacina COVID-19, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes.

Analisando os participantes vacinados e comparando-os mediante diagnóstico com COVID-19, observamos distinção somente entre V1 vs. V1+, em que os níveis de anticorpos são 1,8x mais elevados em quem já foi infectado com SARS-CoV-2 (5.411,2 UA/mL vs. 10.026,7 UA/mL).

Entre o grupo de não vacinados (Figura 6B), não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre os participantes em nenhuma das condições avaliadas.

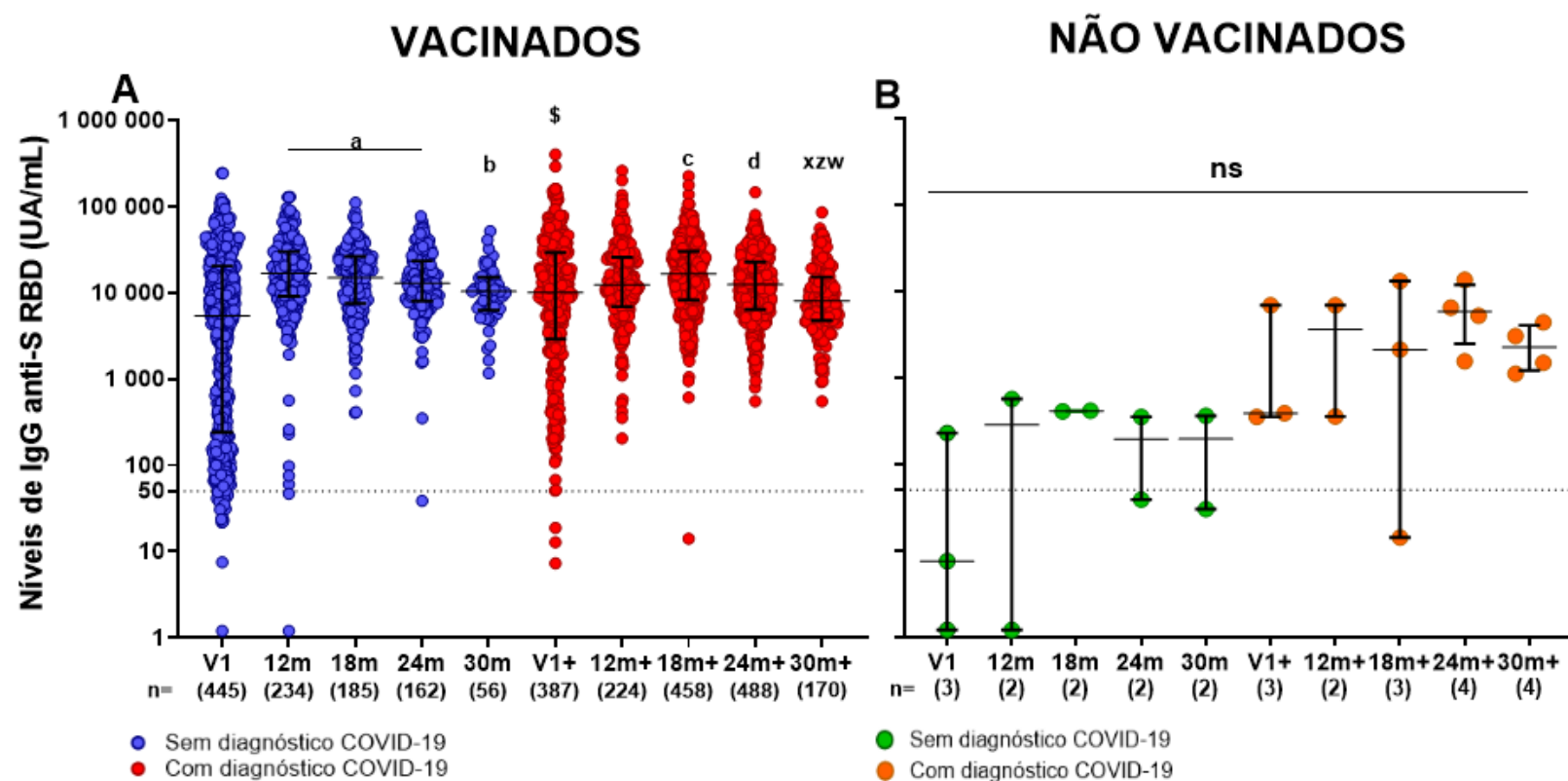


Figura 6: Apresentação dos níveis de anticorpos anti-S RBD em participantes com ou sem diagnóstico para COVID-19 no grupo de vacinados (A) e não vacinados (B), nas coletas realizadas na primeira visita (V1), visita de 12 meses (12m), 18 meses (18m), 24 meses (24m) e 30 meses (30m) após a primeira dose das vacinas COVID-19. Os gráficos estão com escala em log10, sendo inserido o valor de corte de 50UA/mL. O número de participantes nas coletas de cada visita está representado entre parênteses abaixo da respectiva visita. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em vacinados:** **a** comparação entre V1 vs. 12m; V1 vs. 18m e V1 vs. 24m; **b** comparação entre 12m vs. 30m; **c** comparação entre V1+ vs. 18m+; **x** comparação entre 12m+ vs. 30m+; **d** comparação entre 18m+ vs. 24m+; **z** comparação entre 18m+ vs. 24m+; **w** comparação entre 18m+ vs. 30m+; **\$** comparação entre V1 vs. V1+. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em não vacinados:** **ns** não significativo nas comparações entre as visitas.

5.4.4 Avaliação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD considerando a quantidade de doses recebidas e histórico de infecções com SARS-CoV-2

Sabidamente, com o decorrer do tempo os níveis de anticorpos decrescem, independente de qual estímulo ao sistema imunológico desencadeou sua produção. Para avaliarmos os níveis de anti-S RBD determinados ao longo do acompanhamento após a primeira dose da vacina COVID-19, estratificamos os grupos de acordo com a quantidade de doses recebidas, mantendo a separação do histórico de diagnóstico de COVID-19 para todos, possibilitando assim avaliar se houve diferença entre os estímulos de indução de produção de anticorpos.

Como podemos observar na Figura 7A, na primeira visita, o diagnóstico com COVID-19 alterou os níveis de anticorpos somente nos participantes vacinados com regime primário (RP), aumentando em 6,4x os níveis de anti-S RBD (222,9 UA/mL vs. 1.436,9 UA/mL). Ao compararmos nesta mesma visita os dados de participantes com número de doses de vacinas diferentes, mas sem histórico de COVID-19, observamos que: RP vs. primeiro reforço (1R) com elevação de 48,4x nos níveis de anti-S RBD (222,9 UA/mL vs. 10.797,2 UA/mL) e RP vs. segundo reforço (2R) com aumento de 54,5x na quantidade de anticorpos (12.157,5 UA/mL). As mesmas análises entre os participantes com diagnóstico de COVID-19 e número de doses diferentes, não foram distintas.

A Figura 7B que representa os resultados da dosagem de anticorpos de participantes 12 meses pós-vacinação, e observamos que a infecção com SARS-CoV-2 não alterou a quantidade de anticorpos em participantes que receberam o mesmo quantitativo de doses. Contudo, apesar das comparações RP vs. 1R (2.990,6 UA/mL vs. 17.719,2 UA/mL) e RP+ vs. 1R+ (5.178,5 UA/mL vs. 12.748,2 UA/mL) apresentarem elevação quanto aos níveis de anticorpos, o número de participantes muito divergente entre os grupos não possibilitou uma análise estatística. Na Figura 7C são

apresentados os resultados obtidos na dosagem de anticorpos nos participantes 18 meses após administração da primeira dose de vacina COVID-19, em que observamos que participantes com duas doses de reforço e que tiveram diagnóstico de COVID-19 apresentaram elevação de 1,5x nos níveis de anticorpos quando comparados aos participantes com apenas um reforço (12.437,6 UA/mL vs. 19.410,6 UA/mL). De modo semelhante, a comparação dos resultados obtidos 24 meses após a imunização com as vacinas COVID-19 (Figura 7D) apenas as comparações entre participantes que testaram positivo para COVID-19 RP+ vs. 2R+ (3.003,4 UA/mL vs. 13.840,4 UA/mL) e 1R+ vs. 2R+ apresentaram diferença (8.429,1 UA/mL vs. 13.840,4 UA/mL), onde observamos aumentos nos níveis de anticorpos de 4,6x e 1,6x, respectivamente. Dentre os resultados (Figura 7E) apenas a comparação entre RP+ vs. 2R+ foi distinta (3.603,8 UA/mL vs. 9.506,6 UA/mL), apresentando uma elevação de 2,6x na quantificação de anticorpos.

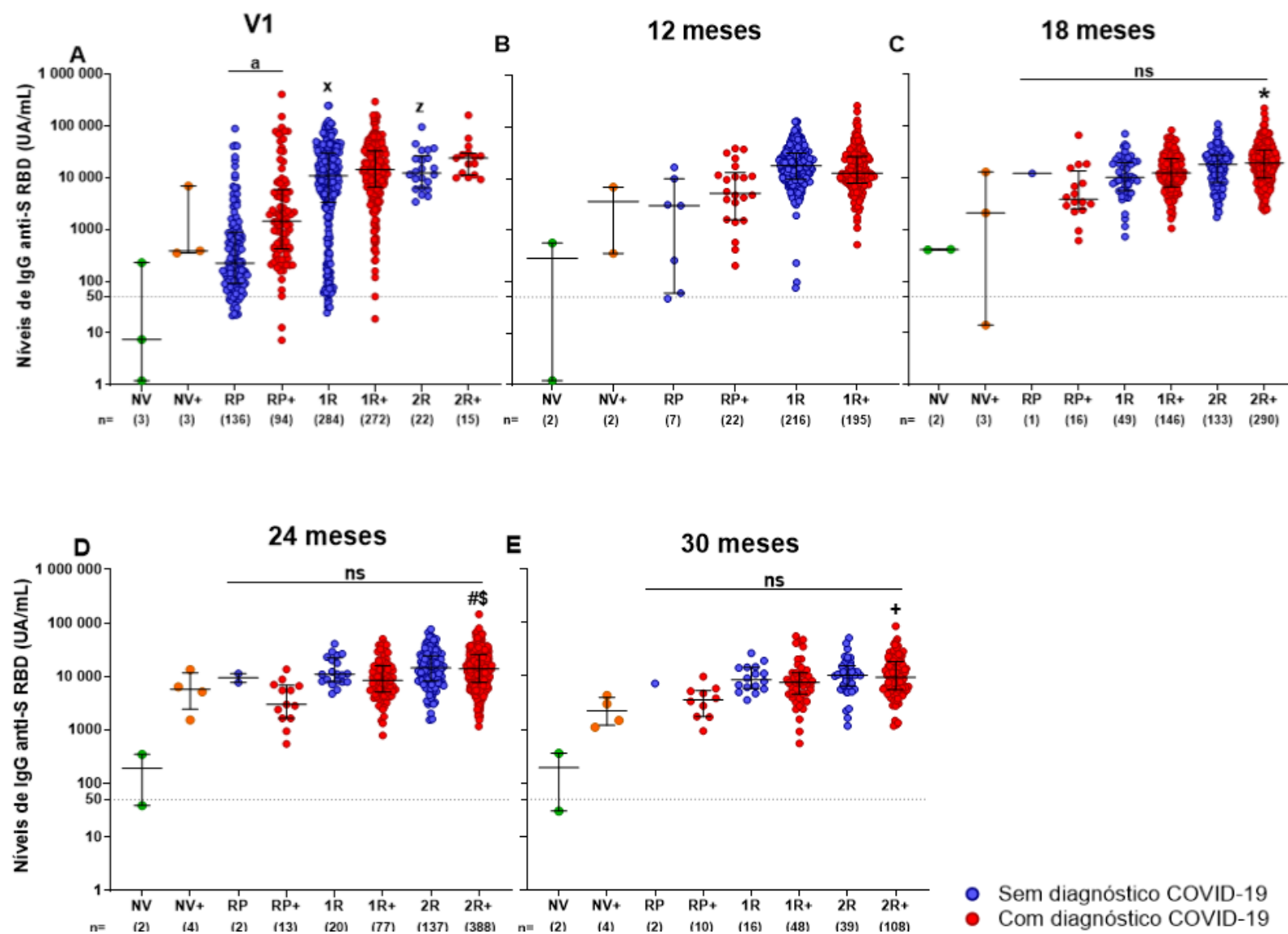


Figura 7: Apresentação dos níveis de anticorpos anti-S RBD conforme a quantidade de doses recebidas em participantes sem e com diagnóstico de COVID-19, correspondendo à primeira visita (A), visita de 12 meses (B), 18 meses (C), 24 meses (D) e 30 meses após a primeira dose de vacina COVID-19 (E). Os gráficos estão com escala em log10, sendo inserido o valor de corte de 50UA/mL. NV: não vacinados; RP: regime primário; 1R: 1º reforço; 2R: 2º reforço. O número de participantes nas coletas de cada visita está representado entre parênteses abaixo da respectiva visita. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em V1:** **a** comparação entre RP vs. RP+; **x** comparação entre RP vs. 1R; **z** comparação entre RP vs. 2R. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 12 meses:** **ns** não significativas as comparações entre RP vs. 1R e entre RP+ vs. 1R+. $P < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 18 meses:** ***** comparação entre 1R+ vs. 2R+; **ns** não significativo nas comparações entre: RP vs. RP+, 1R vs. 1R+, 2R vs. 2R+; RP vs. 1R; RP vs. 2R; 1R vs. 2R e RP+ vs. 1R+. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 24 meses:** **#** comparação entre RP+ vs. 2R+; **\$** comparação entre 1R+ vs. 2R+; **ns** não significativo nas comparações entre: RP vs. RP+; 1R vs. 1R+; 2R vs. 2R+; RP vs. 1R; RP vs. 2R e 1R vs. 2R. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 30 meses:** **+** comparação entre RP+ vs. 2R+; **ns** não significativo nas comparações entre RP vs. RP+; 1R vs. 1R+; 2R vs. 2R+; RP vs. 1R; RP vs. 2R; 1R vs. 2R e RP+ vs. 1R+.

5.4.5 Análise da influência do tempo de infecção prévia com SARS-CoV-2 na produção de anticorpos IgG anti-S RBD

As análises anteriores mostraram que tanto a infecção prévia, quanto as doses de reforço aumentam os níveis de anticorpos anti-S RBD. Contudo, a resposta imunogênica mediada pelo contato com o vírus do SAR-CoV-2 é tempo dependente, de modo que quanto mais próximo de uma infecção o indivíduo realizar a quantificação de anticorpos anti-S RBD contra o vírus, maior serão os níveis. Assim, nós estratificamos os grupos em participantes com infecções diagnosticadas em intervalo menor/igual ou maior que três meses, que é o período definido pela OMS para que um outro diagnóstico positivo seja considerado uma nova infecção quando não há determinação genética da variante de infecção⁶⁴.

Para avaliar o efeito da infecção com SARS-CoV-2 na produção de anti-S RBD de modo mais detalhado, observamos na Figura 8 a estratificação por visita dos dados de participantes que haviam recebido diagnóstico positivo em até três meses antes de realizar a coleta sanguínea e com mais de três meses antes de tal coleta. Entre todas as visitas avaliadas os níveis de anti-S RBD de quem havia sido diagnosticado até três meses antes da coleta foi estatisticamente diferente, apresentado níveis mais elevados, somente nas visitas de 12 meses, 18 meses e 24 meses.

Ao comparamos os dados oriundos das visitas de 12 meses após a primeira dose de vacina COVID-19, observamos que o diagnóstico positivo até três meses antes da coleta resultou em 2x mais anticorpos (22.967,7 UA/mL vs. 11.239,4 UA/mL) comparado ao nível de anticorpos de quem havia recebido diagnóstico a mais de três meses. Os resultados das coletas realizadas 18 meses após a primeira dose de vacina COVID-19 foram semelhantes, onde o diagnóstico mais próximo à coleta resultou em 1,5x mais anticorpos, quando comparado a participantes que tiveram diagnóstico a mais de 3 meses (23.194,4 UA/mL vs. 14.859,5 UA/mL). A comparação da coleta

de 24 meses pós-vacinação apresenta que a infecção mais recente resultou em 1,7x mais anti-S RBD, distinguindo as coletas (17.766,4 UA/mL vs. 10.552,5 UA/mL).

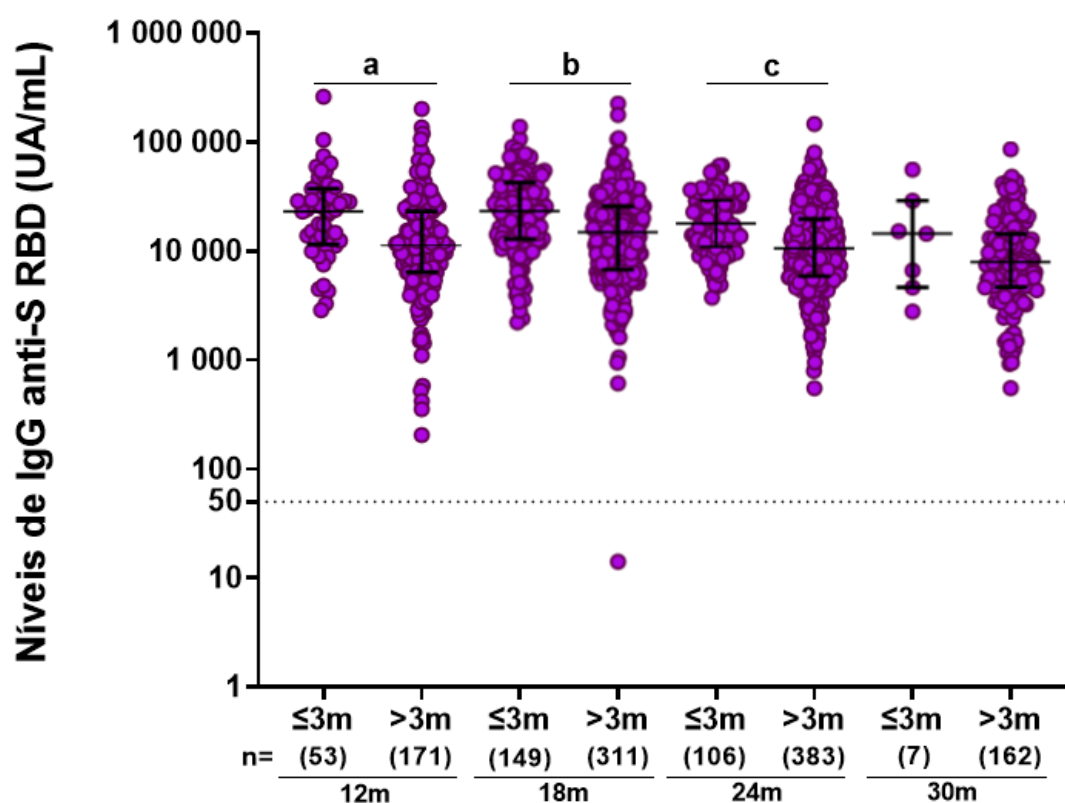


Figura 8: Apresentação dos níveis de anticorpos anti-S RBD em grupos estratificados por visita de 12 meses (12m), 18 meses (18m), 24 meses (24m) e 30 meses (30m) após a primeira dose de vacina COVID-19, com distinção entre o tempo de infecção com SARS-CoV-2 antes da realização da coleta. Os gráficos estão com escala em log10, sendo inserido o valor de corte de 50UA/mL. O número de participantes nas coletas de cada visita está representado entre parênteses acima da respectiva visita. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 12 meses:** a comparação entre ≤3m vs. >3m. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 18 meses:** b comparação entre ≤3m vs. >3m. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD em 24 meses:** c comparação entre ≤3m vs. >3m.

5.4.6 Comparação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD em grupos estratificados por esquema vacinal – Esquema CoronaVac

A vacinação no Brasil foi iniciada em 17/01/2021 e o primeiro imunizante disponibilizado foi a vacina CoronaVac. Assim, a vacinação dos grupos prioritários, como o dos profissionais da saúde, foi majoritariamente com a CoronaVac como esquema primário. Posteriormente, outras vacinas também foram disponibilizadas pelo PNI, o que propiciou um esquema heterólogo de vacinação que é particular no Brasil. Desta forma, avaliamos os níveis de anticorpos anti-S RBD nos diferentes esquemas vacinais empregados para analisarmos se houve diferença na resposta imunológica produzida pelos diferentes imunizantes.

A maioria dos participantes da coorte recebeu como regime primário na vacinação doses da vacina CoronaVac e no primeiro reforço dose da vacina BNT162b2, fazendo com que este seja denominado esquema vacinal 1 que é apresentado na Figura 9. O período de acompanhamento nesta análise é apresentado em dias após o recebimento das respectivas doses. O segundo reforço ficou dividido entre os imunizantes BNT162b2, Ad.26.COV2.S e ChAdOx1-S.

A Figura 9A representa os dados de participantes acompanhados ao longo de 720 dias após a vacinação e que permaneceram somente com o esquema primário. Apesar da soroconversão ocorrer 14 dias após imunização com vacinas COVID-19, somente dois participantes realizaram a coleta no período de 15-90 dias após a vacinação os níveis de anti-S RBD, impossibilitando comparações período com os demais.

As análises comparativas dos participantes com regime primário completo realizado com CoronaVac apresenta diferenças entre: o período de 91-180 dias vs. os períodos de 271-360 e 361-450 em que observamos aumentos de 24,2x e 63,7x nos níveis de anticorpos, 451-540 e 631-720 dias, em que são observados aumentos de até 17,7x nos níveis de anti-S RBD (176,5 UA/mL vs. 4.275,0 UA/mL, 11.260,0 UA/mL, 3.137,0 UA/mL e 3.003,0

UA/mL), respectivamente. Ainda comparando os dados do regime primário, o período de 181-270 dias foi diferente dos períodos de 271-360 e 361-450, em que os aumentos observados são de 18,5x e 48,7x nos níveis de anticorpos (231,0 UA/mL vs. 4.275,0 UA/mL, 11.260,0 UA/mL). Apesar de mais discreto, a comparação com o período de 451-540 dias ainda apresenta uma elevação de 13,6x (231,0 UA/mL vs. 3.137,0 UA/mL). Estes aumentos sem que uma dose de reforço tenha sido administrada ocorreram concomitantemente ao período de circulação da variante Ômicron no Brasil.

A indicação para administração do primeiro reforço ocorreu no Brasil em setembro de 2021 abrangendo o período de 271-360 dias do regime primário. A Figura 9B mostra os dados de participantes que receberam o primeiro reforço e permaneceram com este esquema até o final da análise deste trabalho, de modo que as comparações dos dados de vacinados com o primeiro reforço entre o período de 15-90 dias foi diferente dos períodos de 91-180, 181-270, 271-360, 361-450 e 451-540 dias. Observamos uma redução nos anticorpos de 2,5x no período de 91-180 dias, que fica mais acentuada e chega a 3,2x no período de 181-270 dias (33.059,5 UA/mL vs. 13.228,0 UA/mL; 10.259,0 UA/mL), quando comparado ao período de 15-90 dias após a dose de reforço.

Por não ter havido nenhuma vacinação, no período de 271-360 dias a redução foi de 2,6x, seguindo para um declínio de 3,1x entre 361-450 dias (33.059,5 UA/mL vs. 12.475,0 UA/mL; 10.602,0 UA/mL). Por fim, no período de 451-540 dias a diminuição na quantidade de anticorpos voltou a ser de 2,6x (33.059,5 UA/mL vs. 12.489,5 UA/mL).

Com relação ao segundo reforço, observamos que a comparação entre os períodos de 15-90 dias dos que receberam BNT162b2 nesse reforço vs. 15-90 dias do primeiro reforço, demonstraram um aumento de 1x na quantificação de anti-S RBD, tornando-os diferentes estatisticamente (34.556,5 UA/mL vs. 33.059,5 UA/mL). Os participantes que receberam BNT162b2 como segundo reforço (Figura 9C), apresentaram redução de 1,9x nos níveis de anticorpos entre o período de 15-90 dias vs. 91-180 (34.556,5 UA/mL vs. 17.800,0 UA/mL), de 2,3x entre o período de 15-90 dias vs. 181-

270 (34.556,5 UA/mL vs. 14.669,0 UA/mL), ficando ainda mais acentuada entre o período de 15-90 dias vs. 271-360 dias, com redução de 4,4x na quantidade de anticorpos (34.556,5 UA/mL vs. 7.771,0 UA/mL). Interessantemente, a administração de Ad.26.COV2.S (Figura 9D) e ChAdox1-S (Figura 9E) como segundo reforço não foram diferentes nas comparações entre os períodos de dias do próprio imunizante nem com os períodos de dias dos outros imunizantes.

Após analisarmos os níveis de anticorpos em participantes que receberam doses de um mesmo imunizante, comparamos os períodos semelhantes entre imunizantes distintos. Observamos a partir destas análises que o período de 91-180 e 181-270 dias do Regime Primário são diferentes dos períodos de 91-180 e 181-270 dias do primeiro reforço, em que no primeiro reforço observamos um aumento de 100,8x (176,5 UA/mL vs. 17.800,0 UA/mL – 91-180d) e de 3,4x nos níveis de anticorpos (4.275,0 UA/mL vs. 14.669,0 UA/mL – 181-270d).

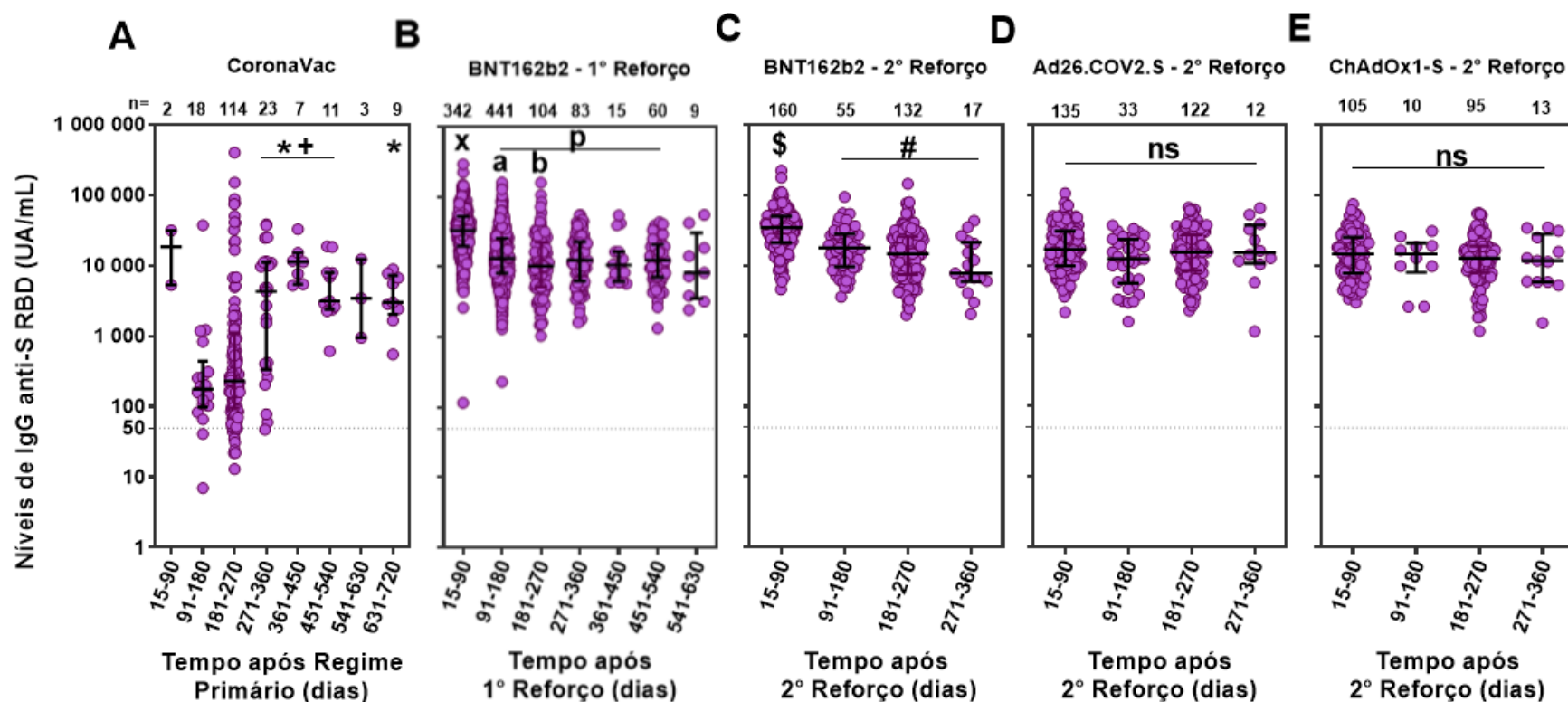


Figura 9: Apresentação dos níveis de anti-S RBD em dias após o recebimento de cada dose do esquema vacinal e estratificação de acordo com o imunizante administrado em cada dose, em que regime primário foi feito com CoronaVac (A), 1º reforço com BNT162b2 (B), 2º reforço com BNT162b2 (C), 2º reforço com Ad.26.COV2.S (D) e 2º reforço com ChAdOx1-S (E). O número de participantes nas coletas após cada imunizante está representado acima do respectivo imunizante. $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no regime primário:** * comparação entre o período de 91-180 dias do gráfico A com 271-360, 361-450, 451-540 e 631-720 dias no gráfico A; + comparação entre o período de 181-270 dias do gráfico A com 271-360, 361-450 e 451-540 dias no gráfico A. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD no 1º reforço:** x comparação entre o período de 271-360 dias do gráfico A com 15-90 dias do gráfico B; p comparação entre o período de 15-90 dias do gráfico B com 91-180, 181-270, 271-360, 361-450 e 451-540 dias no gráfico B.

B; **a** comparação entre o período de 91-180 dias do gráfico A com 91-180 dias do gráfico B; **b** comparação entre o período de 181-270 dias do gráfico A com 181-270 dias do gráfico B. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (BNT162b2):** \$ comparação entre o período de 15-90 dias do gráfico B com 15-90 dias do gráfico C; # comparação entre o período de 15-90 dias do gráfico C comparados as demais medianas do mesmo gráfico. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (Ad.26.COV2.S):** ns não significativo. $p < 0,05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (ChAdOx1-S):** ns não significativo

5.4.7 Comparação da produção de anticorpos IgG anti-S RBD em grupos estratificados por esquema vacinal recebido – Esquema ChAdOx1-S

O segundo imunizante a ser disponibilizado no Brasil como regime primário foi a ChAdOx1-S. Assim como no grupo CoronaVac, neste grupo o primeiro reforço da maioria dos participantes também foi feito com BNT162b2 e o segundo reforço variou entre os imunizantes BNT162b2, Ad.26.COV2.S e ChAdOx1-S, sendo este grupo denominado como esquema vacinal 2. A Figura 10 apresenta o esquema 2 com acompanhamento descrito em dias após o recebimento de cada uma das doses. Apesar do regime primário deste esquema ter resultado em um nível de anticorpos mais baixo, quando comparado as doses de reforço, similar ao esquema 1, as doses de reforço induziram as produções mais elevadas quando comparadas com o regime primário de anti-S RBD.

Semelhante as análises feitas com o esquema apresentado anteriormente, fizemos comparações entre os períodos decorridos após a vacinação com cada imunizante, de modo que não observamos diferenças com estes dados. As próximas avaliações foram entre o mesmo intervalo de dias com imunizantes diferentes, resultando em apenas duas diferenças: os períodos de 91-180 e 181-270 dias do Regime Primário são distintos dos períodos de 91-180 e 181-270 dias do primeiro reforço, em observamos aumentos de 10,5x e 7,7x (952,0 UA/mL vs. 10.062,5 UA/mL; 1.516,0 UA/mL vs. 11.649,0 UA/mL), respectivamente.

O menor quantitativo de participantes vacinados com o esquema vacinal 2 não permite comparações com poder estatístico com o esquema 1 entre alguns imunizantes.

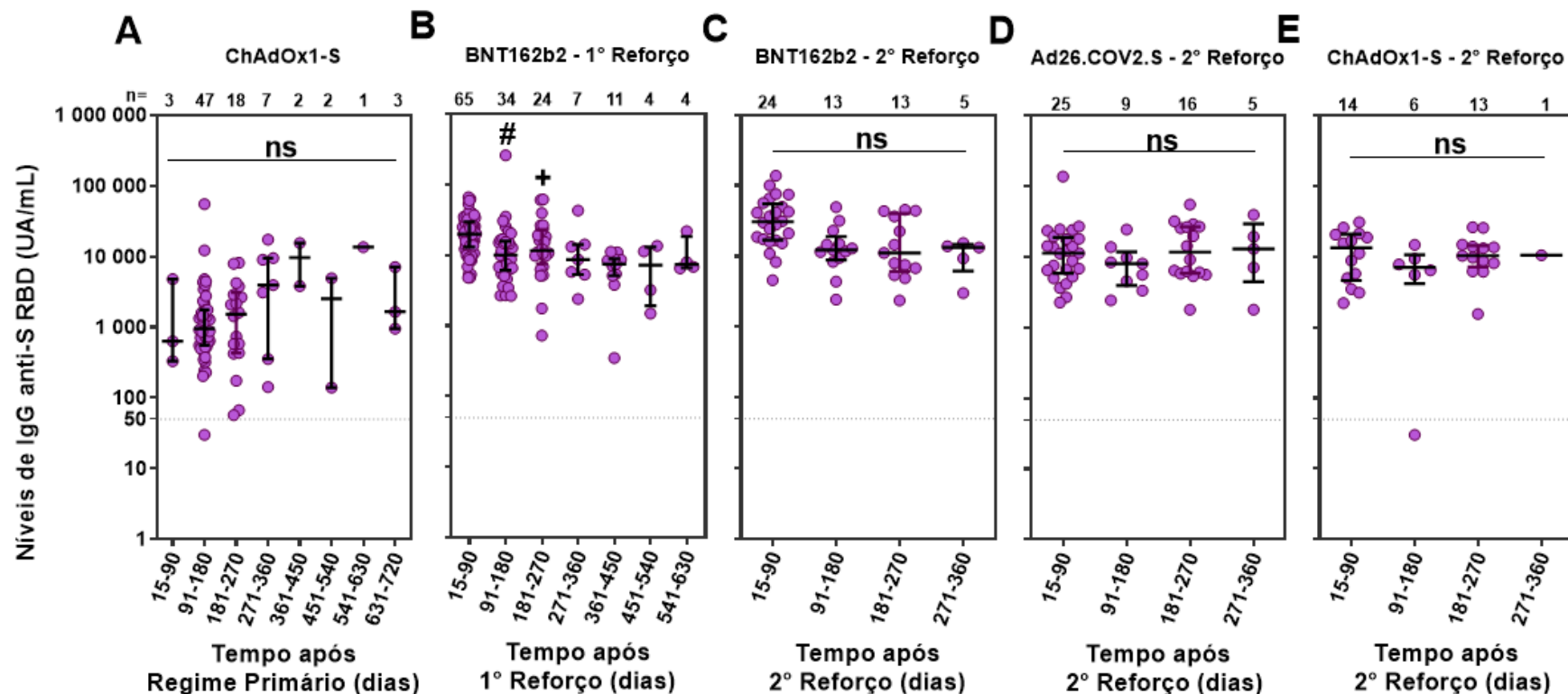


Figura 10: Apresentação dos níveis de anti-S RBD em dias após o recebimento de cada dose do esquema vacinal e estratificação de acordo com o imunizante administrado em cada dose, em que regime primário foi feito com ChAdOx1-S (A), 1º reforço com BNT162b2 (B), 2º reforço com BNT162b2 (C), 2º reforço com Ad.26.COV2.S (D) e 2º reforço com ChAdOx1-S (E). $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no regime primário:** ns não significativo. $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no 1º reforço:** # comparação entre o período de 91-180 dias do gráfico A com 91-180 dias no gráfico B; + comparação entre o período de 181-270 dias do gráfico A com 181-270 dias do gráfico B. $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (BNT162b2):** ns não significativo. $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (Ad.26.COV2.S):** ns não significativo. $p < 0.05$. **Níveis de anti-S RBD no 2º reforço (ChAdOx1-S):** ns não significativo.

5.3 Infecções e gravidade

Ao avaliarmos a imunogenicidade induzida por vacinas COVID-19 e acompanhar os participantes pelo período de 30 meses também foi possível avaliar o comportamento das infecções, quanto a sua frequência e gravidade, após a imunização.

Ao avaliar as falhas vacinais secundárias, que consiste em uma infecção com um patógeno pós-vacinação contra o mesmo, observamos que 626 (75,2%) participantes comprovaram durante o período de acompanhamento que em algum momento após o início do regime primário foram diagnosticados com COVID-19. Ao estratificarmos o regime primário, observamos que apesar da proporção entre os imunizantes utilizados ser muito discrepante, a porcentagem de diagnóstico pós-vacinação foi de 441 (84,0%) dentre imunizados com CoronaVac e 77 (81,0%) dentre os que receberam ChAdOx1-S. Ademais, 392 (47,1%) participantes ao longo do estudo receberam diagnóstico de infecção com SARS-CoV-2 uma única vez, mostrando que os casos de reinfecções foram menores que os de infecções (47,1% vs. 37,6%). Além disso, 55,8% das infecções foram de gravidade leve, em que os participantes apesar de sintomáticos não precisaram de atendimento médico e, dentre os que precisaram de atendimento médico, não necessitaram de internação (98,5%), independente do imunizante recebido no regime primário.

Tabela 5: Falha vacinal secundária e gravidade das infecções

Variável	832 (100%)
Sem diagnóstico COVID-19	197 (23,6%)
Com diagnóstico COVID-19[#]	626 (75,2%)
Diagnóstico COVID-19 (pré-vacinação)	
CoronaVac	84 (16,0%)
ChAdOx1-S	18 (18,9%)
Diagnóstico COVID-19 (pós-vacinação RP)	
CoronaVac	441 (84,0%)
ChAdOx1-S	77 (81,0%)
Reinfecção com SARS-CoV-2	
2 infecções	199 (31,6%)
3 infecções	33 (5,2%)
4 infecções	5 (0,8%)
Gravidade da Infecção*	
Assintomático	24 (3,8%)
Sintomático sem necessidade de atendimento médico	347 (55,8%)
Sintomático com necessidade de atendimento médico	242 (38,9%)
Sintomático com necessidade de internação	8 (1,3%)
Total	621 (100%)

[#] oito dos 832 participantes relataram ter recebido diagnóstico de COVID-19, entretanto, não apresentaram nenhum documento fazendo com que estas infecções não fossem contabilizadas.

* dentre os participantes com diagnóstico de COVID-19, três receberam somente uma dose de CoronaVac e seis receberam o Regime Primário com BNT162b2.

* a porcentagem foi calculada com base no total de gravidades relatadas, devido à falta de resposta em alguns prontuários e casos de reinfecção.

RP: Regime Primário.

DISCUSSÃO

6. Discussão

Os dados apresentados neste trabalho são um recorte da população do estudo SEVACoV-PRO que ainda está em andamento e avalia a efetividade, segurança e imunogenicidade induzida pelas vacinas COVID-19 em profissionais de saúde. A população desse estudo foi escolhida devido aos profissionais da saúde prestarem serviços considerados essenciais à população, de modo que mantiveram suas atividades laborais durante a pandemia, atuando na linha de frente e prestando cuidados de carácter assistencial a indivíduos infectados com SARS-CoV-2, estando assim expostos mais frequentemente ao vírus e a cargas virais mais elevadas, o que aumenta a probabilidade de infecção. Nesse trabalho, analisamos a imunogenicidade da população SEVACoV-PRO do centro do Distrito Federal.

Observamos que, ao longo de 30 meses após a primeira dose da vacina, houve aumento da produção de anticorpos anti-S RBD após a administração do esquema vacinal até o segundo reforço, em relação aos participantes que foram vacinados somente com o regime primário ou primeiro reforço. Além disso, observamos que a vacinação com doses de reforço heterólogas induziu o reestabelecimento dos níveis de anti-S RBD em uma população com esquema vacinal diferente do comumente observado em estudos realizados fora do país⁶⁵⁻⁶⁷.

A coorte SEVACoV-PRO DF foi composta majoritariamente por participantes do sexo feminino e a maioria dos participantes tem faixa etária entre 40-49 anos de idade. Estas são estimativas esperadas ao se tratar de profissionais da saúde, tanto que o Conselho Nacional de Estabelecimentos de Saúde (CNES) aponta que pelo menos 75% dos trabalhadores em exercício são do sexo feminino e possuem entre 40-44 anos de idade, no

Brasil⁶⁸. Em outros países, ensaios clínicos com profissionais da saúde têm dados sociodemográficos semelhantes, apontando estas serem características comuns em todo o mundo^{65,69,70}.

Ademais, a maioria dos profissionais de saúde da nossa coorte é de técnicos de enfermagem e enfermeiros, similarmente ao demonstrado por Dedroogh e cols. (2023)⁶⁵ e Wang e cols. (2022)⁷¹, refletindo que estas categorias representam o maior quantitativo de profissionais ativos e/ou interessados em participar de ensaios clínicos.

Além da diferença entre populações do mesmo país, alguns outros fatores podem causar interferência na resposta imunológica, dentre eles, Zimmermann and Curtis (2019)⁶¹ relatam que o sexo, assim como os extremos de faixa etária, fatores genéticos, comorbidades e fatores geográficos podem resultar em uma imunogenicidade diferente para diversos tipos de vacinas. Para a COVID-19, houve uma correlação entre o avanço da idade com níveis de anticorpos anti-S RBD mais baixos. Estudos realizados com profissionais de saúde no Canadá, Japão e em Portugal, apontaram que o avanço da idade resulta em níveis de anticorpos menores mesmo no período de soroconversão, e que níveis ainda mais baixos são observados nas populações com mais de 60 anos de idade^{66,72-74}. Não foi possível fazer esta análise no nosso estudo, principalmente porque o número de participantes idosos da nossa população é muito pequeno (5%).

Diferentemente de outros ensaios desenvolvidos no Brasil, em que foi observado a maioria dos participantes se declararam como brancos quanto à raça, na nossa coorte houve um equilíbrio na autodeclaração racial entre negros e brancos feita pelos participantes^{71,75}. Assim, diferenças étnico-raciais, que poderiam interferir nas respostas imunológicas destes grupos, não puderam ser consideradas na nossa análise.

O perfil clínico dos participantes, indica que a coorte SEVACoV-PRO DF tem mais da metade de indivíduos sem comorbidade diagnosticada ou com histórico de tabagismo, enquanto a classificação do IMC ficou a maior parte dividida entre participantes com IMC considerado normal e participantes com IMC classificado como sobrepeso. Zimmermann e Curtis (2019)⁶¹ relatam

que indivíduos sem comorbidades ou sem o hábito de fumar tendem a apresentar melhor soroconversão após a administração de diversos imunizantes, como o observado nos resultados obtidos em uma coorte canadense que acompanhou seus participantes por até 13 meses após imunização com vacinas COVID-19⁶⁶. Cherry e cols. (2024)⁶⁶, avaliaram participantes imunizados com BTN162b2 e mRNA-1273 (Moderna) e utilizaram o mesmo kit para dosagem de anticorpos anti-S-RBD do nosso estudo. Quando comparamos os níveis de anticorpos, observamos que apesar da população do nosso estudo ter sido vacinada com um esquema vacinal diferente e com o uso de vacina de vírus inativado, os participantes daquele estudo tiveram níveis de anti-S RBD inferiores aos nossos. Os autores mencionam que uma coorte com um maior número de participantes com diagnóstico de doenças imunossupressoras e em uso de alguns medicamentos, como inibidores do fator necrótico tumoral (TNF) e agentes neoplásicos, poderia explicar níveis baixos de anticorpos. A variável de imunossupressão está presente no estudo SEVACoV-PRO, no entanto será objeto de análise de um estudo posterior, e por esta razão, não foi avaliada em neste estudo.

Além dos dados sociodemográficos e clínicos, a análise da imunogenicidade de uma coorte brasileira permite conhecer o comportamento do perfil imunológico desta população ao longo do tempo, principalmente se considerarmos o esquema vacinal no Brasil, que foi muito diferente de países europeus ou norte-americanos, por exemplo. Ademais, mesmo a população brasileira tendo participado de ensaios para avaliação da eficácia da vacina, ocorridos em ambiente controlado, somente estudos de fase IV possibilitam a obtenção de informações epidemiológicas, de imunogenicidade, eficácia e reações ocorridas pós-vacinação da população no mundo real, em que os fatores de interferência e variação são representativos da realidade diária^{12,30,40,49}. É necessário pontuar também que a ordem em que os imunizantes foram disponibilizados no Brasil possibilitou esquemas de vacinação para COVID-19 diferentes dos comumente observados na literatura, em que o esquema primário foi administrado com BNT162b2,

mRNA-1273 ou ChAdOx1-S e as doses de reforço majoritariamente com os representantes da tecnologia mRNA^{47,65,70,77,79}. Desta forma, avaliar a imunogenicidade nos principais esquemas vacinais da população do estudo pode responder se há um esquema superior ao outro, por exemplo.

Consideramos importante pontuar, que uma das hipóteses e objetivos iniciais do projeto era realizar análise da imunogenicidade induzida pelas vacinas usando os resultados obtidos do grupo de não vacinados como controle, entretanto, como o estudo só foi iniciado após o início do primeiro reforço no Brasil, refletiu na representatividade desta amostra, em que quase a totalidade dos profissionais de saúde participantes eram vacinados. Este é um resultado importante, ao considerar que o movimento antivacina tem se tornado cada vez mais expressivo, e especificamente em relação às vacinas COVID-19, em que interferências políticas e a propagação desenfreada de notícias falsas impactaram consideravelmente as campanhas de vacinação antes, durante e após a pandemia^{80,81}. Este impacto negativo pode ser observado no aumento de indivíduos que abandonaram planos vacinais, elevando de 15,3% em 2018 para 18,9% em 2020⁸². Além do movimento antivacina, a pandemia da COVID-19 e o isolamento social associado à priorização de serviços essenciais a permanecerem ofertados, resultou em uma porcentagem ainda maior de abandono vacinal no ano de 2021 no Brasil, chegando a 60,7%⁸³.

Apesar de ter-se a hipótese de que profissionais da saúde estariam “imunes” ao movimento antivacina em função de suas atividades exercidas e maior propensão a acessar dados baseados em ciência, a queda nas porcentagens de profissionais vacinados é observada inclusive fora do Brasil⁸⁴. Existem profissionais que optaram por não receber as vacinas COVID-19, a exemplo os seis participantes que compõem o grupo de não vacinados do SEVACoV-PRO DF. Apenas um destes participantes informou não ter se imunizado em função de contraindicação médica. Devido a diferença expressiva entre o quantitativo de participantes vacinados vs. não vacinados a capacidade de comparação entre os grupos ficou comprometida, não havendo poder estatístico para as diferenças que fossem observadas.

Assim, na análise da imunogenicidade todas as comparações foram feitas entre os grupos de vacinados.

Como um reflexo dos dados de vacinação no Brasil disponibilizados pelo Ministério da Saúde, em que os profissionais de saúde compõem o segundo grupo de pessoas que mais receberam doses de vacinas COVID-19, e do DF, em que 61% da população completou o esquema de vacinação até a administração do primeiro reforço, a coorte SEVACoV-PRO DF é composta majoritariamente por profissionais da saúde vacinados⁴².

A CoronaVac foi o imunizante mais administrado como esquema primário, e teve, nos ensaios clínicos de eficácia, o menor desempenho entre as vacinas disponibilizadas no Brasil. Já o imunizante BNT162b2 foi utilizado expressivamente no continente europeu e em países desenvolvidos como os EUA e Japão e foi a única vacina com tecnologia de mRNA disponibilizada no Brasil durante o período deste estudo, tendo o registro liberado apenas em 26 de fevereiro de 2021, quando a maior parte dos profissionais da saúde já haviam finalizado seu regime primário de vacinação⁴⁴. Desta forma, o esquema vacinal brasileiro foi heterólogo, com a indicação de uma dose de reforço com BNT162b2, preferencialmente^{85,86}.

O primeiro reforço passou a ser disponibilizado a partir de setembro de 2021 em função do declínio nos níveis de anticorpos ao longo do tempo e aumento no número de casos confirmados de COVID-19, visando o reestabelecimento dos níveis de anticorpos aos observados nos períodos seguintes a soroconversão pós regime primário, na intenção de atenuar a novas infecções com evolução a casos graves e óbitos^{26,87-89}. Desta forma, uso de BNT162b2 foi indicado como dose de reforço para os demais grupos prioritários a vacinação, imunizando preferencialmente como dose de reforço heteróloga para quem havia feito esquema primário com CoronaVac e homóloga para quem havia recebido duas doses de BNT162b2^{85,86,87}. O reforço heterólogo induz produção de anti-S RBD em níveis mais elevados quando comparado à vacinação homóloga e gera uma resposta celular mais robusta e equilibrada envolvendo células Th1, Th2 e citocinas imunomoduladoras como interferon γ (IFN γ), quando comparada à plataforma

de vírus inativado, por exemplo ^{75,90-93}. Desta forma, o esquema de primeiro reforço majoritário com BNT162b2 na população reflete o que apresentamos nesta coorte.

Ao avaliar o perfil imunogênico dos participantes deste estudo, infelizmente não foi possível realizar análise comparativa entre os grupos de vacinados e não vacinados, já que o número de não vacinados (n=6) não permita uma análise com poder estatístico. No entanto, a imunização causou um aumento de 28x nos níveis de anti-S RBD nos indivíduos que se vacinaram quando comparado aos não vacinados (8.115,6 UA/mL vs. 288,4 UA/mL) já no momento em que iniciaram a participação no estudo, confirmando a importância da vacinação para melhor resposta imunológica e defesa contra o vírus do SARS-CoV-2 ⁹⁴⁻⁹⁶.

Corroborando esta observação, Bergwerk e cols. (2021)⁷⁰ mostraram em sua coorte de profissionais da saúde em Israel níveis menores de anticorpos na coleta realizada no período peri-infecção (que em alguns casos ocorreu no mesmo dia do diagnóstico) comparado às quantificações antes desse período ou um mês após finalização do regime primário. Isso demonstra que a indução do sistema imunológico através vacinas resulta em uma resposta mais robusta que a obtida com infecção, sendo também mais segura por não desencadear os processos inflamatórios na mesma proporção com possíveis complicações que poderiam acarretar óbito⁹⁶.

No decorrer do nosso estudo, os profissionais não vacinados passaram pelas ondas de infecções causadas pelas variantes Delta, Ômicron e suas subvariantes, o que em casos de novas infecções ou reinfecções resultou no aumento dos níveis de anti-S RBD observados neste grupo, entretanto, sem diferença estatística daqueles participantes não vacinados que permaneceram até o final desta análise sem diagnóstico de infecção com SARS-CoV-2^{50,79,97}. Já os participantes do grupo vacinado que receberam duas doses de reforço, ao se tratar da administração do segundo reforço, observamos o reestabelecimento dos níveis de anticorpos observados após o período de soroconversão do primeiro reforço. Ao analisarmos os dados dos vacinados com diagnóstico positivo para COVID-19, observamos que a

administração das doses de reforço elevou em até 4,6x os níveis dos anticorpos. Corroborando ao observado, Wolszczak-Biedrzycka e cols. (2023)⁹⁸ em seu estudo realizado com profissionais de saúde poloneses, apresenta que a imunização com doses de reforço eleva a quantidade de anticorpos contra o SARS-CoV-2 e que os participantes com histórico de COVID-19 ainda apresentam níveis de anticorpos maiores, apesar de terem até 10x de aumento vs. 30x de aumento obtidos pelos participantes sem infecção prévia pós vacinação com o reforço.

Além disto, em SEVACoV-PRO DF dentre o grupo de vacinados 74,8% dos participantes passaram por uma falha vacinal secundária, dos quais somente 1,3% necessitou de internação. Ademais, mesmo a quantidade de vacinados com CoronaVac ter sido 5,5x maior comparado aos imunizados com ChAdOx1-S no regime primário, a diferença entre o quantitativo de diagnósticos de COVID-19 foi mínima (3%). Para avaliar os casos de falha vacinal Gillot e cols. (2023)⁹⁹ no desenvolvimento do estudo belga CRO-Vax e Wolszczak-Biedrzycka e cols. (2023)⁹⁸ realizaram análises em grupos pareados com quantificação de anticorpos anti-S e anti-N, em que observaram que os participantes no período peri-infecção apresentaram níveis mais baixos de anticorpos em relação aos controles⁷⁰. Apesar de termos estratificado nossa população mediante histórico de infecção, não dispusemos de recursos para realização de testagem anti-N. No Brasil, a disponibilidade de testagem para rastreio de infecções não supria totalmente as necessidades, mesmo que de profissionais da saúde, também não havendo a quantificação dos anticorpos produzidos pós-infecção. Estas duas situações nos impossibilitaram de assim poder comparar nossos achados com os destes autores.

Ademais, ressalta-se que no estudo SEVACoV-PRO não houve rastreio de infecções com SARS-CoV-2, de modo que todos os casos registrados foram autorrelatos dos participantes com apresentação de comprovação da infecção. Este fato justifica observamos nos participantes não vacinados e sem diagnóstico de COVID-19, mas com níveis de anti-S RBD acima do limiar de detecção de 50 UA/mL, sugerindo que estes

participantes tiveram contato com o vírus e desenvolveram COVID-19 assintomática ou que não realizaram testagem ao apresentar sintomas.

No nosso trabalho também observamos que os participantes apresentavam imunidade híbrida, e que esses apresentavam mais anticorpos anti-S RBD do que aqueles que receberam apenas as vacinas, demonstrando que a produção de anticorpos mediante vacinação e infecção é mais robusta⁹⁸. Esse dado está de acordo com os achados de Wang e cols. (2022)⁷¹ e Yalçın e cols. (2022)⁶³ que observaram maiores níveis de anticorpos em participantes com infecção prévia.

Devemos pontuar também que SEVACoV-PRO DF por ser uma coorte dinâmica em que o recrutamento de participantes durou 15 meses, possibilitou que os participantes que iniciaram no estudo após junho de 2022 já poderiam ter recebido o esquema vacinal até o segundo reforço. Com isso, a comparação entre os dados dos participantes que iniciaram o estudo imunizados com o regime primário versus o primeiro reforço, observamos que a administração da dose de reforço foi capaz de reestabelecer altos níveis de anticorpos anti-S RBD (aumento de até 48,4x), corroborando outros resultados descritos em literatura, em que o primeiro reforço heterólogo induziu níveis mais altos comparado a uma dose homóloga^{65,75}. Isso demonstra que além das células de memória serem estimuladas a novamente produzir anticorpos com a administração do primeiro reforço, uma dose heteróloga estimula a produção de novos anticorpos já que é um mecanismo distinto do imunizante previamente recebido. Contudo, a administração do segundo reforço induz níveis mais altos de anti-S RBD, resultando em 54,5x mais anti-S RBD em relação aos imunizados com o regime primário.

Essas observações pontuadas após administração do primeiro e segundo reforço podem ser justificadas pelo início do esquema heterólogo, estímulo das células de memória, alta eficácia e capacidade de induzir a produção de níveis maiores de anti-S RBD pela vacina de mRNA mediante atuação da resposta imune adaptativa a nível celular com produção de células T CD4 vírus específicas^{50,65,67,75,100-102}. Outro fator que pode vir a interferir na resposta imunológica é intervalo de tempo entre a administração das doses.

No Brasil, o início da distribuição das doses de reforço ocorreu cerca de 240 dias pós início da vacinação do regime primário, o que corrobora a descrição de que um intervalo de tempo maior sugere a indução para produção de níveis de anticorpos mais elevados ⁶⁵.

Podemos avaliar o efeito da administração da primeira dose de reforço nos resultados oriundos da coleta feita durante a visita de 12 meses, visto a indicação para imunização com esta dose ter ocorrido para profissionais de saúde cerca de três meses antes do período estabelecido para realização da visita. Em semelhança, podemos observar o efeito da administração do segundo reforço nos níveis de anticorpos obtidos através da coleta realizada na visita de 18 meses e 24 meses.

Semelhante ao comportamento da imunidade adquirida, a imunogenicidade oriunda de infecções tende a declinar com o passar do tempo e ao estratificarmos os níveis de anti-S RBD de acordo com o intervalo de tempo de ocorrência das infecções, observamos que as infecções diagnosticadas até três meses antes da coleta resultaram em níveis de anticorpos até 2x maiores do que as que haviam ocorrido a mais de três meses^{50,103,104}. Yalçın e cols. (2022)⁶³ também observaram que os níveis de anti-S RBD são maiores em um intervalo entre 3 – 6 meses após a infecção. Além disso, nesta coorte quase 32% dentre os 75% de participantes com histórico de infecções, tiveram dois diagnósticos de COVID-19. Considerando que nosso acompanhamento foi de até 30 meses após a vacinação para COVID-19, podemos inferir que as infecções com SARS-CoV-2 contribuem para uma proteção contra reinfecções mais longínqua. A exemplo, Hall e cols. (2021)¹⁰³, observaram que anticorpos neutralizantes oriundos de uma infecção prévia protegem de contra reinfecções por cerca de sete meses após o diagnóstico. Contudo, vale mencionar que o estudo foi conduzido em uma época em ainda não haviam surgido variantes mais transmissíveis e patogênicas, de modo que em uma nova análise poderíamos encontrar um intervalo de tempo diferente.

Para avaliarmos a resposta induzida pelos diferentes imunizantes distribuídos no Brasil, os esquemas vacinais foram estratificados conforme a

porcentagem de participantes que receberam cada um deles. Dividimos e nomeamos como esquema 1 o grupo de participantes vacinados em regime primário com CoronaVac e o esquema 2 o grupo que recebeu ChAdOx1-S no regime primário. Além disso, diferente das análises anteriormente apresentadas em que o intervalo de tempo foi em meses, as mensurações conforme o tipo de imunizante recebido, foram apresentadas com o intervalo de tempo em dias, para possibilitar melhor comparação entre as doses. Desta forma, dentre os participantes imunizados com CoronaVac, observamos que os níveis de anticorpos apresentam diferença estatística partir das comparações do período de 181-270 dias com os períodos seguintes. Interessantemente, dentre os participantes que permaneceram vacinados com o regime primário durante todo o acompanhamento, observamos um aumento de 18,5x nos níveis de anti-S RBD entre o período mencionado comparado ao de 271-360 dias, mesmo sem ter havido administração de uma nova dose de vacina COVID-19. Esse aumento expressivo ocorre concomitante à circulação da variante Ômicron e suas subvariantes no país¹⁰⁵. Wang e cols. (2022)⁷¹ relataram que três participantes imunizados com CoronaVac com falha vacinal primária apresentaram soroconversão quatro meses após terem finalizado o esquema primário e permanecerem assintomáticos. Assim como no nosso estudo, esses autores não realizaram rastreio ativo de infecções enquanto acompanhavam seus participantes, o que sugere que os participantes foram infectados com SARS-CoV-2 mas não foram diagnosticados, justificando a detecção dos anticorpos após o período esperado

Nossas análises seguiram com a avaliação do imunizante BNT162b2 como primeiro reforço. Devido a indicação do primeiro reforço ter ocorrido no intervalo que compreende o período de 271-360 dias do regime primário, a primeira comparação realizada foi entre os níveis de anti-S RBD quando a vacina disponibilizada com o que sucede a soroconversão (271-360 dias do regime primário vs. 15-90 dias do primeiro reforço), quando observamos que o início da imunização heteróloga elevou o nível dos anticorpos em 7,7x, diferenciando os períodos.

Clemens e cols (2022)⁷⁵ observaram que em populações dos estados da Bahia e de São Paulo com esquema vacinal semelhante ao do SEVACoV-PRO DF, houve uma elevação de 152x nos níveis de anti-S RBD após imunização com o primeiro reforço heterólogo, enquanto o grupo de participantes do mesmo estudo que recebeu um reforço homólogo apresentou aumento nos níveis de anticorpos de somente 12x. Estes mesmos autores realizaram um outro estudo, com a população brasileira dos estados do Pará e Rio Grande do Norte, também avaliando o efeito de um primeiro reforço heterólogo e mostram um aumento de até 7,4x na quantificação de anticorpos¹⁰⁰. Tanto os nossos achados quanto os dois outros estudos realizados no Brasil, sugerem que as características genéticas de nossa população e o regime primário com CoronaVac não interferiram na resposta imunológica pós reforço heterólogo. Apesar das vacinas de mRNA apresentarem maiores quantificações de anticorpos, Cherry e cols (2024)⁶⁶ relatam que em sua coorte os participantes que receberam reforço homólogo de BNT162b2.

Estudos realizados em outros países também observaram resultados semelhantes, mesmo em populações que foram vacinadas com outros esquemas vacinais. Por exemplo, o aumento de 64,3x nos níveis de anticorpos em um estudo conduzido no Japão em que o regime primário era de BNT162b2 + primeiro reforço de mRNA-1273⁹⁰. Nos Estados Unidos, Atmar e cols. (2022)⁹¹ observaram que houve um aumento de 34x nos níveis de anticorpos em população que recebeu a vacina Ad.26.COV2.S como regime primário e primeiro reforço com BNT162b2 e de 55x para os que receberam mRNA-1273. Estas diferenças entre os esquemas vacinais mostram que a administração de um reforço heterólogo, não necessariamente com o imunizante BNT162b2, provoca um aumento expressivo nos níveis de anti-S RBD quando comparado a doses de reforço homólogas^{75,90,91}.

Ainda analisando os dados após a administração do primeiro reforço no esquema vacinal 1, observamos que entre 3-6 meses pós-vacinação há um declínio nos níveis de anti-S RBD. No intervalo que compreende o período entre 6-9 meses pós-vacinação, observamos 3,2x menos anticorpos do que

no período de 15-90 dias. A literatura descreve que a quantificação de anticorpos após imunização com BNT162b2 também começa a decair entre 4-6 meses pós-vacinação, se acentuando a partir dos sete meses, assim como apresentado em nossa coorte^{65,96,101,106}. Mesmo com a diminuição nos níveis de anticorpos após o primeiro reforço, a quantidade de anti-S RBD nos períodos de 181-270 e 271-360 dias, foi superior aos quantificados nos participantes que permaneceram com o regime primário, no mesmo intervalo. Sanada e cols. (2022)¹⁰¹ relatam que em seu estudo realizado com profissionais de saúde japoneses, os níveis de anti-S RBD de vacinados com dose de reforço ainda foram 8,5x superiores aos dos que permaneceram com regime primário, expondo a importância das doses de reforço.

Por sua vez, as análises do esquema vacinal 2 (regime primário com ChAdOx1-S) não apresentaram diferenças entre os participantes que permaneceram vacinados somente com ChAdOx1-S, mesmo que estes indivíduos tenham sido expostos ao SARS-CoV-2, e possivelmente alguns tenham se contaminado, com a variante Ômicron e suas subvariantes. Contudo, a administração do primeiro reforço elevou em 10,5x e em 7,7x a quantidade de anticorpos em relação aos períodos semelhantes de 91-180 dias e 181-270 dias, respectivamente, pós conclusão do regime primário.

Apesar de nossos achados não terem apresentado diferença estatística entre si no regime primário (Esquema 2) e mediante o conhecimento de que há decréscimo nos níveis de anticorpos a partir de quatro meses após dose de reforço, o estudo COV-BOOST de fase II conduzido no Reino Unido por Liu e cols. (2022)¹⁰⁷ apresenta que 28 dias pós-vacinação com dose de reforço, já são observados decréscimos nos níveis de anticorpos. Contudo, não podemos comparar as taxas de declínio na quantidade de IgG anti-S mensurados entre SEVACoV-PRO DF com o estudo COV-BOOST devido o uso de diferentes ensaios para quantificar os níveis de anticorpos e pelo fato de nossa análise ser um ensaio de fase IV, que não restringiu a participação de indivíduos com histórico de infecção com SARS-CoV-2.

Diante do conhecimento de que os níveis de anticorpos decrescem a partir de quatro meses pós-vacinação com uma dose de reforço e a circulação

de novas subvariantes de Ômicron, como a BA.2, em abril de 2022 ocorreu a indicação de vacinação com o segundo reforço, visto que a subvariante já era considerada como variante de interesse, (do inglês *variants of interest* - VOI) no leste asiático e continente europeu¹⁰⁸. No Brasil, especificamente no Distrito Federal, a segunda onda de infecções causada pelas subvariantes de Ômicron ocorreu no intervalo de maio a julho de 2022¹⁰⁹. Desta forma, nossa análise também foi feita com os dados dos imunizantes BNT162b2, Ad.26COV2.S e ChAdOx1-S administrados como de segundo reforço.

Nas análises dos esquemas vacinais 1 e 2, observamos que somente o segundo reforço com a vacina BNT162b2 induziu um aumento de 1,7x nos níveis de anticorpos anti-S RBD quando comparado ao primeiro reforço, nos respectivos períodos de 15-90 dias do esquema vacinal 1. Isso pode ser explicado pelo mecanismo que a tecnologia usada na plataforma vacinal de BNT162b2 estimula a resposta imunogênica, atuando através de nanopartículas lipídicas que possuem mRNA modificado, contendo codificações para a glicoproteína S do SARS-CoV-2 em seu nucleosídeo e assim ativando de modo mais eficiente células de memória para produção de mais anticorpos^{12,33,110}.

Munro e cols. (2023)⁶⁷ apresentaram em uma nova coorte, na qual os participantes da coorte COV-BOOST foram convidados a participar de um estudo de fase II para administração do segundo reforço, de modo que BNT162b2 tiveram aumento de 1,6x nos níveis de anti-S RBD, assemelhando-se as comparações feitas no esquema vacinal 1 do nosso estudo, em que o segundo reforço elevou em 1x o nível dos anticorpos¹⁰⁷. Apesar do regime primário do esquema vacinal 2 de SEVACoV-PRO DF ser semelhante ao da coorte de Munro e cols. (2023)⁶⁷, não encontramos diferenças entre a o primeiro e segundo reforço nas análises do nosso esquema, mesmo que SEVACoV-PRO se trate de um estudo em mundo real, sem exclusão de participantes com histórico de infecção por COVID-19. Não foi possível comparar as os níveis de anticorpos obtidos no esquema vacinal 2 com a população do Reino Unido, visto nesta nova coorte ainda ser utilizado um teste de quantificação diferente⁶⁷.

Assim como observado com o regime primário e primeiro reforço, ao longo do tempo os níveis de anti-S RBD após o segundo reforço decaem, de modo que nos participantes de SEVACoV-PRO DF esse decréscimo era de 4,4x no período de 271-360 dias pós-vacinação. Este é um cenário que requer atenção ao considerarmos que após o segundo reforço a diminuição na quantidade de anticorpos foi mais acentuada que o observado após o primeiro reforço, por exemplo, visto que impacta nas estratégias de saúde pública que determinam as campanhas de vacinação no país. Este declínio maior pós-vacinação com segundo reforço pode ser justificado pelo cenário epidemiológico em que o imunizante foi indicado, de modo que, no período correspondente a administração do primeiro reforço a variante Ômicron estava em circulação resultando nas semanas epidemiológicas com maiores números de casos e óbitos (semanas 1 a 14 de 2022)¹¹¹.

LIMITAÇÕES

7 Limitações

A principal limitação deste estudo foi a falta de rastreamento ativo na coorte para detecção de infecções com SARS-CoV-2. Como quase 100% dos participantes eram vacinados, dos quais 70,6% completaram o esquema vacinal até a imunização com o segundo reforço, é provável que infecções assintomáticas ou de sintomatologia leve tenham passado sem que houvesse o diagnóstico. Uma alternativa para suprir a falta de testagem periódica na população seria a quantificação de anticorpos anti-SARS-CoV-2 da glicoproteína N (anti-N), capazes de detectar a presença de anti-N gerados após uma infecção, como realizado em outros estudos.

Entretanto, 83,6% dos participantes receberam a vacina CoronaVac no regime primário e este é um imunizante produzido a partir de vírus inativado, a realização de anti-N poderia acabar se tornando um fator de confusão, visto esta plataforma vacinal induzir também a produção de anticorpos do tipo anti-N. A falta de uma base de dados nacional, ou pelo menos distrital, consistente em que diagnósticos positivos estivessem disponíveis dificultou o acesso a comprovantes de infecções ocorridas nos anos de 2020 e 2021.

Outra limitação do estudo foi o baixo número de participantes não vacinados, que impossibilitou seu uso como controle para melhor avaliação dos efeitos da vacinação no perfil imunogênico da coorte. Além disto, este é um estudo financiado pelo Ministério da Saúde, e o longo tempo entre o início da imunização com vacinas COVID-19 e as liberações necessárias para o início do estudo não nos permitiu obter amostras dos participantes antes de terem iniciado o regime primário, excluindo a possibilidade de cada participante ser seu próprio controle em todas as doses recebidas.

CONCLUSÃO

8 Conclusão

A análise da resposta imunológica humoral dos profissionais de saúde participantes do estudo SEVACoV-PRO DF nos permite concluir que, apesar desta população ser composta por indivíduos majoritariamente vacinados e não disponibilizar de um grupo controle para comparação, a produção de anticorpos anti-S RBD foi mais robusta ao ser induzida mediante vacinação do que por infecção.

REFERÊNCIAS

Referências

1. 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. *The Lancet*. 2020, Feb. 395 (10223): 497-506. doi: [10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5)
2. Kalil OAK. and Kalil SS. SARS-CoV-2: taxonomy, origen and constitution. *Rev Med (São Paulo)*. 2020, Out; 99(5): 473 – 479. doi: 10.11606/issn.1679-9836.v99i5p473-479.
3. Wit E., Van Doremalen N., Falzarano D. and Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev*. 2016, Aug; 14: 523-534. doi: 10.1038/nrmicro.2016.81.
4. Hosseini ES., Kashani NR., Nikzad H., Azadbakht J., Bafrani HH. and Kashani HH. The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. *Viol*. 2020, Dec; 551: 1 – 9. doi: 10.1016/j.viol.2020.08.011.
5. Li Q., et. al. Early transmission dynamics in Wuhan, China, of novel coronavirus-infected pneumonia. 2020, Mar; 382(13): 1199 – 1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.
6. Site Organização Pan-Americana da Saúde: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19> acessado em 28/07/2022 às 22:06hs.
7. Mousavizadeh L. and Ghasemi S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *J Microbiol Immunol Infect*. 2021 Apr; 54(2): 159–163. doi: [10.1016/j.jmii.2020.03.022](https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.022)

8. Mohamadian M., Chiti H., Shoghli A., Biglari S., Parsamanesh N., Esmaeilzadeh A. COVID-19: Virology, biology and novel laboratory diagnosis. *J Gene Med.* 2021 Feb; 23(2): e3303. doi: [10.1002/jgm.3303](https://doi.org/10.1002/jgm.3303).
9. Hoffmann M., Kleine-Weber H., Schroeder S., Krüger N., Herrler T., Erichsen S., et.al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell.* 2020 Apr 16; 181(2): 271–280.e8. doi: [10.1016/j.cell.2020.02.052](https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052)
10. Habas K., Nganwuchu C., Shahzad F., Gopalan R., Haque M., Rahman S. Resolution of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Expert Review of Anti-infective Therapy.* 2020. 18(12). doi: [10.1080/14787210.2020.1797487](https://doi.org/10.1080/14787210.2020.1797487)
11. Han X. and Ye Q. The variants of SARS-CoV-2 and the challenges of vaccines. *J Med Virol.* 2022 Apr; 94(4): 1366-1372. doi: [10.1002/jmv.27513](https://doi.org/10.1002/jmv.27513)
12. Fiolet F., Kherabi Y., MacDonald CJ., Ghosn J., and Peiffer-Smadja N. Comparing COVID-19 vaccines for their characteristics, efficacy and effectiveness against SARS-CoV-2 and variants of concern: a narrative review. *Clin Microbiol Infect.* 2022 Feb; 28(2): 202–221. doi: [10.1016/j.cmi.2021.10.005](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2021.10.005)
13. Inoue JI., and Yamamoto M. Identification of an existing Japanese pancreatitis drug, Nafamostat, which is expected to prevent the transmission of new coronavirus infection (COVID-19). The University of Tokyo, 2020 Mar. [Identification of an existing Japanese pancreatitis drug, Nafamostat, which is expected to prevent the transmission of new coronavirus infection \(COVID-19\)](https://www.u-tokyo.ac.jp/en/news/2020/03/20200319_01.html) | The University of Tokyo ([u-tokyo.ac.jp](https://www.u-tokyo.ac.jp)) acessado em 04/07/2024 às 22:34h.
14. Lima LNGC., De Sousa MS., and Lima KVB. The genomic discoveries of the SARS-CoV-2 and their implications for the COVID-19 pandemic. *J Health Biol Sci.* 2020 May; 8 (1): 1-9. doi: 10.12662/2317-3219jhbs.v8i1.3232.p1-9.2020.

15. Hassine IH. COVID-19 vaccines and variants of concern: a review. *Rev Med Virol.* 2022, Jul; 32(4): e2313. doi: [10.1002/rmv.2313](https://doi.org/10.1002/rmv.2313)
16. Ou T., Mou H., Zhang L., Ojha A., Choe H., and Farzan M. Hydroxychloroquine-mediated inhibition of SARS-CoV-2 entry is attenuated by TMPRSS2. *PLoS Pathog.* 2021 Jan; 17(1): e1009212. doi: 10.1371/journal.ppat.1009212.
17. Site da Organização Mundial da Saúde: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019> acessado em 20/04/2024 às 21:34h.
18. Kaku Y., et. al. Virological characteristics of the SARS-CoV-2 KP.3, LB.1, and KP.2.3 variants. *Lancet Infect Dis.* 2024, Jun; doi: 10.1016/S1473-3099(24)00415-8.
19. Site Ministério da Saúde: [Informe Técnico - Inclusão da vacina da Covid-19 monovalente XBB na estratégia de vacinação contra a Covid-19 — Ministério da Saúde \(www.gov.br\)](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/vacinas/covid-19/monovalente-xbb) acessado em 15/05/2023 às 22:13h.
20. Parsons RJ. and Acharya P. Evolution of the SARS-CoV-2 Omicron spike. *Cell Rep.* 2023, Dec; 42(12): 113444. doi: 10.1016/j.celrep.2023.113444.
21. Site Organização Mundial da Saúde: [Casos de COVID-19 | Painel da OMS COVID-19 \(who.int\)](https://covid19.who.int/) acessado em 05/06/2024 às 08:12h.
22. Site Organização Mundial da Saúde: [Mortes por COVID-19 | Painel da OMS COVID-19 \(who.int\)](https://covid19.who.int/) acessado em 05/06/2024 às 08:47h.
23. Site da OMS: <https://covid19.who.int/> acessado em 13/02/2023 às 18:13hs.
24. Site Universidade Aberta do SUS (UNASUS): [Coronavírus: Brasil confirma primeiro caso da doença - Notícia - UNA-SUS \(unasus.gov.br\)](https://www.unasus.gov.br/) acessado em 02/05/2024 às 08:40h
25. Site Organização Mundial da Saúde: <https://www.who.int/countries/bra/> acessado em 02/05/2024 às 13:06h.

26. Site Ministério da Saúde: [Covid-19 - Casos e Óbitos \(saude.gov.br\)](https://saude.gov.br/covid-19/casos-e-obitos) acessados em 02/05/2024 às 13:24h.
27. Site Ministério da Saúde: <https://covid.saude.gov.br/> acessado em 20/04/2024 às 21:41h.
28. Site Secretária de Saúde do Distrito Federal: [Covid-19 - Secretaria de Saúde do Distrito Federal \(saude.df.gov.br\)](https://saude.df.gov.br/covid-19) acessado em 05/06/2024 às 09:35h.
29. Vitiello A., Ferrara F., Troiano V., and La Porta R. COVID-19 vaccines and decreased transmission of SARS-CoV-2. *Inflammopharmacology*. 2021; 29(5): 1357–1360. doi:[10.1007/s10787-021-00847-2](https://doi.org/10.1007/s10787-021-00847-2).
30. He Q., et al. COVID-19 Vaccines: current understanding on immunogenicity, safety and further considerations. *Front Immunol*. 2021, Apr; 12. doi: [10.3389/fimmu.2021.669339](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.669339)
31. Mistry P. et.al. SARS-CoV-2 variants, vaccines, and host immunity. *Front Immunol*. 2022, Jan; 12. doi: [10.3389/fimmu.2021.809244](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.809244)
32. Callaway E. The next Generation of coronavirus vaccines: a graphical guide. *Nat*. 2023, Feb.
33. Lotfi H, Mazar MG, Ei NMH, Fahim M and Yazdi NS. Vaccination is the most effective and best way to avoid the disease of COVID-19. *Immun Inflamm Dis*. 2023, Ago; 11: E946. doi: 10.1002/iid3.946
34. Polack FP., et. al. Safety and efficacy of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *N Engl J Med*. 2020, Dec; 383(27):2603-2615. doi: 10.1056/NEJMoa2034577.
35. Site Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas> acessado em 05/07/2024 às 21:49h.
36. Site Organização Mundial da Saúde: [172 countries and multiple candidate vaccines engaged in COVID-19 vaccine Global Access Facility \(who.int\)](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/vaccine-development) acessado em 23/05/2024 às 20:48h.

37. Site GAVI: [COVAX Facility \(gavi.org\)](https://covid19.gavi.org/) acessado em 23/05/2024 às 21:02h.
38. Rashedi R., Samieefar N., Masoumi N., Mohseni S. and Rezaei N. COVID-19 vaccines mix-and-match: the concept, the efficacy and the doubts. *J Med Virol.* 2022, Apr; 94(4): 1294-1299. doi: [10.1002/jmv.27463](https://doi.org/10.1002/jmv.27463)
39. Hahn Wo. and Wiley Z. COVID-19 vaccines. *Infect Dis Clin North Am.* 2022, Jun; 36(2): 481-494. doi: [10.1016/j.idc.2022.01.008](https://doi.org/10.1016/j.idc.2022.01.008)
40. Site Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas> acessado em 13/02/2023 às 16:04h.
41. Site Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/o-que-muda-com-o-registro-de-uma-vacina> acessado em 02/05/2024 às 02:32h.
42. Site Ministério da Saúde: https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19.html acessado em 22/04/2024 às 01:19h.
43. Site Ministério da Saúde: [Cobertura Vacinal COVID-19 \(saude.gov.br\)](https://saude.gov.br/cobertura-vacinal-covid-19) acessado em 16/05/2024 às 13:28h.
44. Site Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/informe-a-populacao-brasileira> acessado em 24/04/2024 às 09:17h
45. Site da Empresa Brasil de Comunicação: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2022-06/covid-19-governo-libera-quarta-dose-para-maiores-de-40-anos> acessado em 25/04/2024 às 02:35h.
46. Liu Q., Qin C., Liu M. and Liu J. Effectiveness and safety of SARS-CoV-2 vaccine in real-world studies: a systematic review and meta-analysis. *Infect Dis Poverty.* 2021; 10: 132. doi: [10.1186/s40249-021-00915-3](https://doi.org/10.1186/s40249-021-00915-3)

47. Sharif N., Alzahrari KJ., Ahmed Sn. and Dey SK. Efficay, immunogenicity, and safety of COVID-19 vaccines: a systematic review and meta-analisys. *Front Immunol.* 2021; 12: 714170. doi:[10.3389/fimmu.2021.714170](https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.714170)
48. Goldberg Y. *et. al.* Protection and Waning of Natural and Hybrid Immunity to SARS-CoV-2. *N Engl J Med.* 2022; 386:2201-2212. doi: [10.1056/NEJMoa2118946](https://doi.org/10.1056/NEJMoa2118946)
49. Palacios R, *et al.* Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated) Vaccine Manufactured by Sinovac – PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials.* Oct – 2020, 21 (853). doi: 10.1186/s13063-020-04775-4.
50. Barouch DH. Covid-19 vaccines – immunity, variants, boosters. *N Engl J Med.* 2022 Sep; 387: 1011-1020. doi: [10.1056/NEJMr2206573](https://doi.org/10.1056/NEJMr2206573)
51. Feikin DR. *et. al.* Duration of effectiveness of vaccines Against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease: results of a systematic review and meta-regression. *Lancet.* 2022, Mar; 399(10328): 924-944. doi: [10.1016/S0140-6736\(22\)00152-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)00152-0)
52. Zhou Z., Zhu Y. and Chu M. Role of COVID-19 vaccines in SARS-CoV-2 variants. *Front Immunol.* 2022, May; 13. doi: [10.3389/fimmu.2022.898192](https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.898192)
53. Fan YJ., Chan KH., and Hung IFN. Safety and Efficacy of COVID-19 Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Different Vaccines at Phase 3. *Vaccines.* 2021, Sep; 9(9): 989. doi: [10.3390/vaccines9090989](https://doi.org/10.3390/vaccines9090989)
54. Cameroni E. *et. al.* Broadly neutralizing antibodies overcome SARS-CoV-2 Omicron antigenic shift. *Nature.* 2021, Dec; 602, 664-670. doi: [10.1038/s41586-021-04386-2](https://doi.org/10.1038/s41586-021-04386-2)
55. Site Anvisa: [Atualização sobre análise de vacinas bivalentes contra Covid-19 — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa \(www.gov.br\)](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/vacinas/covid-19/atualizacao-sobre-analise-de-vacinas-bivalentes-contr-covid-19) acessado em 02/05/2024 às 02:48h.

56. Site Anvisa: [Anvisa aprova vacinas bivalentes para dose de reforço contra Covid-19 — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa \(www.gov.br\)](#) acessado em 02/05/2024 às 02:51h.
57. Site Ministério da Saúde: [esquema-vacinal-covid-19 \(www.gov.br\)](#) acessado em 16/05/2023 às 00:39h.
58. Mayr FB., Talisa VB., and Butt AA. Efficacy of a Fourth Dose of Covid-19 mRNA Vaccine against Omicron. *N Engl J Med*. 2022, Feb; 386: 1377-1380. doi: [10.1056/NEJMc2202542](#)
59. Marks PW., Gruppuso PA. and Adashi EY. Urgent need next-generation COVID-19 vaccines. *JAMA*. 2023; 329(1): 19-20. doi: [10.1001/jama.2022.22759](#)
60. Offit PA. Bivalent COVID-19 vaccines – a cautionary tale. *N Engl J Med*. 2023 Feb; 388:481-483. doi: [10.1056/NEJMp2215780](#)
61. Zimmermann P., and Curtis N. Factors that Influence the Immune Response to Vaccination. *Clin Microbiol Rev*. 2019, Apr; 32(2): e00084-18. doi:[10.1128/CMR.00084-18](#)
62. Tang R., et. al. Safety and immunogenicity of aerosolized Ad5-nCoV, intramuscular Ad5-nCoV, or inactivated COVID-19 vaccine CoronaVac given as the second booster following three doses of CoronaVac: a multicentre, open-label, phase 4, randomized trial. *Lancet Respir Med*. 2023, Mar; 11: 613 – 623. doi: 10.1016/S2213-2600(23)00049-8.
63. Yalçın TY., et. al. Immunogenicity after two doses of inactivated virus vaccine in healthcare workers with and without previous COVID-19 infection: Prospective observational study. *J Med Virol*. 2022, Jan; 94(1): 279-286. doi: [10.1002/jmv.27316](#).
64. Site Ministério da Saúde: [Transmissão — Ministério da Saúde \(www.gov.br\)](#) acessado em 05/06/2024 às 17:08h.

65. Dedroogh S., et. al. Impact of timing and combination of different BNT162b2 and ChAdOx1-S COVID-19 basic and booster vaccinations on humoral immunogenicity and reactogenicity in adults. *Sci Rep.* 2023, Jun; 13: 9036. doi: [10.1038/s41598-023-34961-8](https://doi.org/10.1038/s41598-023-34961-8).
66. Cherry N., et. al. Determinants of SARS-CoV-2 IgG response and decay in Canadian healthcare workers: a prospective cohort study. *Vaccine.* 2024, Fev; 42 (5): 1168-1178. doi: 10.1016/j.vaccine.2024.01.052.
67. Munro APS, et al. Safety, immunogenicity, and reactogenicity of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccines given as fourth-dose boosters following two doses of ChAdOx1 nCoV-19 or BNT162b2 and a third dose of BNT162b2 (COV-BOOST): a multicentre, blinded, phase 2, randomised trial. *Lancet Infect Dis.* 2022, Ago; 22 (8): 1131-1141. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00271-7.
68. Site Conselho Nacional de Saúde: [Conselho Nacional de Saúde - 4ª CNGTES \(saude.gov.br\)](https://cngtes.saude.gov.br) acessado em 04/05/2024 às 13:06h
69. Krintus M., et. al. Determinants of the level of anti-SARS-CoV-2 IgG antibodies after vaccination (DANTE-SIRIO 7) study in a large cohort of healthcare workers. *Vaccines.* 2022, Dez; 10 (12): 2125. doi: 10.3390/vaccines10122125.
70. Bergwerk M., et. al. COVID-19 breakthrough infections in vaccinated health care workers. *N Engl J Med.* 2021, Jul; 385 (16): 1474-1484. doi: 10.1056/NEJMoa2109072.
71. Wang HTL., et. al. Sequential IgG antibody monitoring for virus-inactivated and adenovirus-vectored COVID-19 vaccine in Brazilian healthcare workers. *J Med Virol.* 2022, Aug; 94(8): 3714-3721. doi: [10.1002/jmv.27782](https://doi.org/10.1002/jmv.27782).
72. Hoshida S., et. al. Age- and sex-based changes in spike protein antibody status after SARS-CoV-2 vaccination and effect of past-infection in healthcare workers in Osaka. *BMC Infect Dis.* 2022, Ago; 22: 709. doi: 10.1186/s12879-022-07695-7.

73. Nomura Y., et. al. Attenuation of antibody titers from 3 to 6 months after the second dose of the BNT162b2 vaccine depends on sex, with age and smoking risk factors for lower antibody titers at 6 months. *Vaccines*. 2021, Dez; 9 (12): 1500. doi: 10.3390/vaccines9121500.
74. Oliveira-Silva J., et. al. Humoral response to the SARS-CoV-2 BNT12b2 mRNA vaccine: real-world data from a large cohort of healthcare workers. *Vaccine*. 2022, Jan; 40 (4): 650-655. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.12.014.
75. Clemens SAC, et al. Heterologous versus homologous COVID-19 booster vaccination in previous recipients of two doses of CoronaVac COVID-19 vaccine in Brazil (RHH-001): a phase 4, non-inferiority, single blind randomized study. *Lancet*. 2022, Jan; (399): 521-529. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00094-0.
76. Naranbhai V. et.al. Comparative Immunogenicity and effectiveness of mRNA-1223, BNT162b2, and Ad26.Cov2.S COVID-19 vaccines. *J Infec Dis*. 2022 Apr; 225(7): 1141-1150. doi: [10.1093/infdis/jiab593](https://doi.org/10.1093/infdis/jiab593)
79. Spitzer A., et. al. Association of a Third dose of BNT162b2 vaccine with incidence of SARS-CoV-2 infection among health care workers in Israel. *JAMA*. 2022, Jan; 327 (4): 1-9. doi: 10.1001/jama.2021.23641
80. Rosa SS., Barros THB and Laipelt RCF. O discurso antivacina no ontem e no hoje: a Revolta da Vacina e a pandemia da COVID-19, uma abordagem a partir da análise do discurso. *Reciis*. 2023, Set; 17 (3): 616-632. doi: 10.29397/reciis.v17i3.3774.
81. Site FioCruz: Saúde em foco. A queda da imunização no Brasil. Adriane Cruz. *Consensus*. 20-29. URL: revistaconsensus_25.pdf (fiocruz.br) acessado em 04/05/2024 às 12:08h.
82. Boschiero MN., Palamim CVC., and Marson FAL. The hindrances to perform the COVID-19 vaccination in Brazil. *Hum Vaccin Immunother*. 2021, Ago; 17 (11): 3989-4004. doi: 10.1080/21645515.2021.1955607.

83. Site Butantan: [Queda nas taxas de vacinação no Brasil ameaça a saúde das crianças - Instituto Butantan](#) acessado em 04/05/2024 às 12:23h.
84. Coppeta L., et. al. Seroprevalence for vaccine-preventable diseases among Italian healthcare workers. *Hum Vaccin Immunother.* 2020, Out; 17 (5): 1342-1346. doi: 10.1080/21645515.2020.1818523.
85. Site da Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/anvisa-faz-recomendacoes-sobre-doses-de-reforco-de-vacinas-contracovid-19> acessado em 24/04/2024 às 09:20h.
86. Site da Anvisa: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2021/acompanhe-a-situacao-da-avaliacao-de-vacinas-contracovid-19> acessado em 24/01/2024 às 09:23h.
87. Site Casa Civil: [Terceira dose da vacina Covid-19, para reforço da imunização, começa em setembro — Casa Civil \(www.gov.br\)](#) acessado em 12/07/2024 às 23:41h.
88. Khoury J., et. al. COVID-19 vaccine – Long term immune decline and breakthrough infections. *Vaccine.* 2021, Nov; 39 (48): 6984-6989. doi: 10.1016/j.vaccine.2021.10.038
89. Abasi J. Studies suggest COVID-19 vaccine boosters save lives. *JAMA.* 2022, Jan; 327 (2): 115. doi: 10.1001/jama.2021.23455
90. Naito T., et. al. Reactogenicity and immunogenicity of BNT162b2 or mRNA-1273 COVID-19 booster vaccinations after two doses of BNT162b2 among healthcare workers in Japan: a prospective observational study. *Expert Review of Vaccines.* 2022, Jul; 21 (9): 1319-1329. doi: 10.1080/14760584.2022.2093722.
91. Atmar RL., et. al. Homologous and Heterologous COVID-19 booster vaccinations. *N Engl J Med.* 2022, Jan; 386 (11): 1046-1057. doi: 10.1056/NEJMoa2116414.

92. Sahin U., et. al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and Th1 T cell responses. *Nature*. 2021, Jan; 586: 594-599. doi: 10.1038/s41586-020-2814-7
93. Creech CB, Walker SC and Samuels RJ. SARS-CoV-2 vaccines. *JAMA*. 2021, Feb; 325 (13): 1318–1320. doi:10.1001/jama.2021.3199
94. Silva TC., et. al. Effectiveness of CoronaVac, ChAdOx1 nCoV-19, BNT162b2, and Ad.26.COV2.S among individuals with previous SARS-CoV-2 infection in Brazil: a test-negative, case-control study. *Lancet Infect Dis*. 2022, Jun; 22 (6): 791-801. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00140-2
95. Eyre DW., et. al. Effect of COVID-19 vaccination on transmission of Alpha and Delta variants. *N Engl J Med*. 2022, Jan; 386 (8): 744-756. doi: 10.1056/NEJMoa2116597.
96. Decru B, et al. IgG Anti-Spike Antibodies and Surrogate Neutralizing Antibody Levels Decline Faster 3 to 10 Months After BNT162b2 Vaccination Than After SARS-CoV-2 Infection in Healthcare Workers. *Front Immunol*. 2022, Jun; (13). doi: 10.3389/fimmu.2022.909910
97. Accorsi EK., et. al. Association between 3 doses of mRNA COVID-19 vaccine and symptomatic infection caused by the SARS-CoV-2 Omicron and Delta variants. *JAMA*. 2022, Feb; 327 (7): 639-651. doi: 10.1001/jama.2022.0470.
98. Wolszczak-Biedrzycka B., Bieńkowska A., Cieślikiewicz B., Smolińska-Fijołek E., Biedrzycki G. and Dorf J. (2023) The effect of the third dose of the BNT162b2 vaccine on anti-SARS-CoV-2 spike antibody levels in healthcare workers with and without COVID-19 infection. *Annals of Medicine*. 2023, Feb; 55(1): 722 – 732. doi: 10.1080/07853890.2023.2182907.
99. Gillot C., et. al. Peri-infection titers of neutralizing and binding antibodies as a predictor of COVID-19 breakthrough infections in vaccinated healthcare

professionals: importance of the timing. *Clin Chem Lab Med*. 2023, Mar; 61(9): 1670 – 1675. doi: 10.1515/cclm-2023-0134.

100. Clemens SAC., et. al. Immunogenicity, safety and reactogenicity of heterologous (third dose) booster vaccination with a full or fractional dose of two different COVID-19 vaccines: A phase 4, single-blind, randomized controlled trial in adults. *Hum Vaccin Immunother*. 2023, Jul; 19 (2): 2233400. doi: 10.1080/21645515.2023.2233400.

101. Sanada T, Honda T, Higa M, Yamaji K, Yasui F and Kohara M. Antibody response to third and fourth BNT162b2 mRNA booster vaccinations in healthcare workers in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother*. 2022, Dez; (29): 339-346. doi: 10.1016/j.jiac.2022.12.012.

102. Moss, P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. *Nat Immunol*. 2022, Jan; 23: 186–193. doi: 10.1038/s41590-021-01122-w

103. Hall V., et. al. Protection against SARS-CoV-2 after COVID-19 vaccination and previous infection, *N Engl J Med*. 2022, Feb; 386 (13): 1207-1220. doi: 10.1056/NEJMoa2118691

104. Matuchansky C. Protection against SARS-CoV-2 after vaccination and previous infection, *N Engl J Med*. 2022, Jun; 386 (26): 2534-2535. doi: 10.1056/NEJMc2205618

105. Site do Butantan: <https://butantan.gov.br/noticias/casos-de-omicron-aumentam-mais-de-1000-e-variante-se-torna-predominante-no-estado-de-sao-paulo-segundo-rede-de-alerta> acessado em 26/04/2024 às 20:49h

106. Wei Y., et. al. Estimation of vaccine effectiveness of CoronaVac and BNT162b2 against severe outcomes over time among patients with SARS-CoV-2 Omicron. *JAMA Netw Open*. 2023, Fev; 6 (2): e2254777. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2022.5477.

107. Liu X., et. al. Persistence of immunogenicity after seven COVID-19 vaccines given as third dose boosters following two doses of ChAdOx1 nCov-

19 or BNT162b2 in the UK: three month analyses of the COV-BOOST trial. *J Infect.* 2022, Jun; 84 (6): 795-813. doi: 10.1016/j.jinf.2022.04.018.

108. Site da Organização Pan-Americana de Saúde: <https://www.paho.org/pt/noticias/6-4-2022-americas-correm-risco-nova-onda-covid-19-com-aumento-casos-em-outras-regioes> acessado em 27/04/2024 às 03:40h.

109. Diretoria de estatística e pesquisas socioeconômicas do Distrito Federal – DIEPS. A COVID-19 no Distrito Federal. DIEPS – IPEDF. *Codeplan*. URL: <https://www.ipe.df.gov.br/wp-content/uploads/2018/02/Relatorio-A-COVID-19-no-Distrito-Federal.pdf> acessado em 27/04/2024 às 03:57h.

110. Moreira ED., *et. al.* Safety and efficacy of a third dose of BNT162b2 COVID-19 vaccine. *N Engl J Med.* 2022, Mar; 386 (20): 1910-1921. doi: 10.1056/NEJMoa2200674.

111. Site Ministério da Saúde: [Covid-19 - Casos e Óbitos \(saude.gov.br\)](https://saude.gov.br/covid-19/casos-e-obitos) acessado em 13/07/2024 às 12:36h.

ANEXO I (Aprovação – CEP/FM)

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efetividade e segurança das vacinas Covid-19 distribuídas pelo Programa Nacional de Imunização: estudo de coorte multicêntrico em profissionais de saúde de instituições hospitalares

Pesquisador: Dayde Lane Mendonça-Silva

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 49561321.0.1001.5558

Instituição Proponente: EMPRESA BRASILEIRA DE SERVICOS HOSPITALARES - EBSERH

Patrocinador Principal: EMPRESA BRASILEIRA DE SERVICOS HOSPITALARES - EBSERH

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.850.001

Apresentação do Projeto:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Objetivo da Pesquisa:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Recomendações:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Considerações Finais a critério do CEP:

Projeto com tramitação prioritária por solicitação da Conep-Sars-Covid-19

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 4.850.001

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

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1767341.pdf	13/07/2021 21:30:29		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_COMPAREVACV_13_07_21.pdf	13/07/2021 21:27:12	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Helton_Santiago.PDF	13/07/2021 21:24:51	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Felipe_Camerini.pdf	13/07/2021 21:24:20	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Fernando_Araujo.PDF	13/07/2021 21:23:57	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Joao_Santana.pdf	13/07/2021 21:23:36	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Elisabeth_Carmen_Duarte.pdf	13/07/2021 21:21:52	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Valeria_Valim.pdf	13/07/2021 21:20:28	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Rodrigo_Haddad.pdf	13/07/2021 21:20:01	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Luis_Cristovao_Porto.pdf	13/07/2021 21:19:39	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Ivonne_Agrede.pdf	13/07/2021 21:19:15	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Dalmo_Correia_Filho.pdf	13/07/2021 17:30:44	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Ana_Lucia_Lyrio.pdf	13/07/2021 17:29:07	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Dayde_Lane.pdf	13/07/2021 17:28:36	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Djane_Braz.pdf	13/07/2021 17:28:08	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Elza_Ferreira.pdf	13/07/2021 17:27:51	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Fabiana_Maria.pdf	13/07/2021 17:27:34	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Gustavo_Romero.pdf	13/07/2021 17:27:04	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Jose_Geraldo_Mill.pdf	13/07/2021 17:26:46	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Noemia_Urruth.pdf	13/07/2021 17:26:18	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

**UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA**



Continuação do Parecer: 4.850.001

Outros	Curriculo_Lattes_Patricia_Matias.pdf	13/07/2021 17:25:53	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Roque_Pacheco.pdf	13/07/2021 17:25:31	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Tiago_Veiras.pdf	13/07/2021 17:24:58	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Curriculo_Lattes_Wildo_Araujo.pdf	13/07/2021 17:24:27	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	termo_guarda_biorrep_COMPARAVAC. pdf	13/07/2021 13:45:21	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_06_07.pdf	13/07/2021 13:42:19	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Termo_de_Resp_Compromisso_Pesq_ Responsavel_Dayde.pdf	13/07/2021 13:38:51	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Cronograma	cronograma_Comparavac_06_07_21.pd f	07/07/2021 00:56:26	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	Carta_Encaminhamento_COMPARAVA C.pdf	07/07/2021 00:51:51	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Declaração de concordância	TermoAnuenciaHUB_UnB.pdf	07/07/2021 00:03:46	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	CartaAnuenciaHE_UFPel.pdf	07/07/2021 00:01:03	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	TermoAnuenciaUFS.pdf	06/07/2021 23:59:41	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	TermoAnuenciaUFMG.pdf	06/07/2021 23:59:19	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	TermoAnuenciaUERJ.pdf	06/07/2021 23:57:59	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	TermoAnuenciaHUMAP_UFMS.pdf	06/07/2021 23:57:36	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	TermoAnuenciaHUCAM_UFES.pdf	06/07/2021 23:57:16	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Outros	instrumento_comparevac_06_07_21.pdf	06/07/2021 23:52:38	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Orçamento	Orcamento_02_07_21.pdf	06/07/2021 23:51:29	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_COMPARAVAC.pdf	06/07/2021 23:33:50	Dayde Lane Mendonça-Silva	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

UNB - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE BRASÍLIA



Continuação do Parecer: 4.850.001

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

BRASILIA, 15 de Julho de 2021

Assinado por:

**Antônio Carlos Rodrigues da Cunha
(Coordenador(a))**

Endereço: Universidade de Brasília, Campus Universitário Darcy Ribeiro - Faculdade de Medicina
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.910-900
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3107-1918 **E-mail:** cepfm@unb.br

ANEXO II (TCLE)

Identificação do Participante: ____-____-____

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE

Título do Projeto de Pesquisa: *Efetividade e segurança das vacinas Covid-19 distribuídas pelo Programa Nacional de Imunização: estudo de coorte multicêntrico em profissionais de saúde*

Pesquisador responsável:

Dayde Lane Mendonça
Hospital Universitário de Brasília (HUB-UnB/Ebserh)
SGAN 605 - Asa Norte, Brasília - DF, 70840-901
Telefone: (61) 2028-5530

Convidamos o(a) Senhor(a) a participar, como voluntário(a), da pesquisa acima especificada. O estudo acompanhará uma amostra de cerca de 11 mil profissionais de saúde que atuam em hospitais universitários, divididos em grupos de vacinados e não vacinados, e envolverá a realização de entrevistas, exames clínicos, coleta de material biológico, exames laboratoriais e acompanhamento durante um período de até 36 meses após primeira dose da vacina COVID-19 ou após o início da vacinação contra COVID-19 no Brasil, 17 de janeiro de 2021, para avaliação da efetividade e segurança dos imunizantes.

Todas as informações coletadas neste estudo serão confidenciais (seu nome jamais será divulgado). Somente o pesquisador e/ou equipe de pesquisa terão conhecimento de sua identidade e nos comprometemos a mantê-la em sigilo, assegurando-lhe a omissão total de quaisquer informações que permitam identificá-lo(a). Os dados coletados serão utilizados apenas para esta pesquisa.

A qualquer momento, antes, durante e depois da pesquisa, você poderá solicitar maiores esclarecimentos, recusar-se a participar ou desistir de participar do estudo. Em todos esses casos você não será prejudicado, penalizado ou responsabilizado de nenhuma forma.

Antes de decidir se você quer participar, é importante que você compreenda a pesquisa que está sendo realizada, todos os procedimentos envolvidos, os possíveis benefícios, riscos e desconfortos descritos e explicados abaixo:

INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE A PESQUISA

Objetivo do estudo: Avaliar a efetividade e a segurança das vacinas COVID-19 disponibilizadas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) em profissionais de saúde.

População do estudo: Participarão do estudo profissionais de saúde com vínculo ativo com as instituições hospitalares participantes e demais unidades de saúde da rede de atenção à saúde municipal, estadual ou distrital, acima de 18 anos e que tenham disponibilidade de ser acompanhado no estudo até completar 36 meses da 1ª dose da vacina COVID-19 ou do início da vacinação contra COVID-19 no país, por meio de visitas ao centro de pesquisa, contatos telefônicos ou outros meios de comunicação digital, como WhatsApp. Serão acompanhados dois grupos paralelos: grupo 1: profissionais vacinados com vacinas COVID-19 distribuídas pelo PNI; e o grupo 2 (Controle): profissionais de saúde não vacinados com vacina COVID-19.

Não poderá participar desta pesquisa profissional de saúde que tenha sido vacinado nos ensaios clínicos de eficácia das vacinas Covid-19.

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

Página 1 de 4

Procedimentos do estudo: Os participantes do estudo serão acompanhados até completar 36 meses da 1ª dose da vacina COVID-19 (grupo vacinado) ou até 36 meses após início da vacinação contra COVID-19 no país (grupo controle). Durante esse período, serão coletados dados sociodemográficos, antecedentes clínicos (doenças, alergias, medicamentos em uso e eventos adversos), histórico de vacinação, sinais e sintomas após cada dose de vacina COVID-19, diagnóstico de COVID-19, afastamento laboral e/ou internação por COVID-19 ou eventos graves de saúde, a partir de entrevistas presenciais, contatos telefônicos e/ou preenchimento de questionários eletrônicos enviados por email. Também serão coletados dados sobre casos de COVID-19 nos sistemas de vigilância em saúde dos hospitais participantes. Você terá que ir pessoalmente ao centro de pesquisa cerca de cinco a nove visitas agendadas previamente ou em situações que o participante apresente sintomas gripais associados a COVID-19 ou algum evento adverso pós vacinação (EAPV). Nas visitas agendadas, você será submetido a coleta de sangue para realização de exames laboratoriais: quantificação dos níveis de anticorpos neutralizantes contra SARS-CoV2 no sangue. Em um subgrupo de participantes também será realizada a determinação de resposta imunológica celular. Caso o profissional apresente sintomas gripais durante o período de acompanhamento também poderá ser feita a coleta de swab nasal para diagnóstico de COVID-19 e identificação da variante do vírus SARS-CoV-2. As entrevistas e as coletas de sangue ocorrerão no momento da inclusão no estudo, após assinatura do TCLE, e com 3, 6, 9, 12, 18, 24, 30 e 36 meses após a primeira dose da vacina COVID-19 (grupo 1) ou após início da vacinação no país para o grupo de profissionais não vacinados contra COVID-19 (grupo 2). Caso você tome alguma dose de reforço de vacina COVID-19 distribuída pelo PNI, poderemos pedir para você fazer até três visitas extras ao centro de pesquisa e coletar sangue com 30, 90 e 180 dias após essa vacinação.

Amostras de sangue e materiais biológicos: Algumas amostras biológicas poderão ser guardadas no biorrepositório do Núcleo Medicina Tropical da Universidade de Brasília por dez anos, após autorização do participante.

Para que ocorra o armazenamento das amostras biológicas você precisa consentir a guarda do material coletado. A autorização se dá por meio da assinatura do termo de guarda de amostra biológica. As amostras, após seu consentimento, serão armazenadas com identificação por código numérico para garantir o anonimato. Apenas o pesquisador principal e algumas pessoas da equipe do estudo conhecerão as identidades referentes a cada código.

Mas se você não concordar com isso, por favor, informe sua negativa por escrito no termo de guarda de amostra biológica disponibilizado pela equipe do estudo. Assim a equipe saberá que você prefere não permitir o armazenamento. Depois disso, as amostras serão destruídas e você não terá nenhum tipo de prejuízo ao não permitir o armazenamento do material biológico.

Serão guardadas 2 alíquotas de soro para a avaliação futura de outros anticorpos neutralizantes contra diferentes estruturas do SARS-CoV-2. Também será armazenada uma alíquota de material genético (DNA) coletado de seu sangue para futuro sequenciamento genético caso você desenvolva a forma grave da COVID-19 durante o estudo. Da mesma forma, poderá ser armazenada uma alíquota de material genético do vírus em caso de infecção por SARS-CoV-2 para futuro sequenciamento genético e determinação da variante. Essa abordagem nos permitirá estudar as bases genéticas da resposta imunológica aos vírus e à vacinação contra COVID-19.

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

Página 2 de 4

Possíveis riscos e benefícios do estudo: Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são de categoria mínima e pouco prováveis, podendo estar relacionados ao desconforto em responder os questionamentos e/ou aos eventos relacionados a punção venosa para coleta de sangue, que pode causar dor, vermelhidão ou manchas roxas. Para minimizar os riscos, é assegurado ao participante o direito de se recusar a responder qualquer questionamento, além do anonimato de suas respostas, bem como a garantia de que a coleta de sangue será realizada por pessoal treinado, com experiência e o material de coleta sempre será descartável e esterilizado.

Benefícios coletivos desse estudo: o estudo permitirá que seja conhecida a efetividade e a segurança das vacinas COVID-19 disponibilizadas pelo PNI, contribuindo para a construção de protocolos e orientações sobre a vacinação contra COVID-19 com base em evidências. Desta forma, a sociedade conhecerá o grau e a duração da proteção que essas vacinas proporcionam aos profissionais de saúde, além de conhecer também os riscos de reações adversas no curto e no médio prazo. Os participantes, individualmente, serão beneficiados pelo acompanhamento e monitoramento estreito das possíveis reações adversas pós-vacinação e conhecerão o perfil de imunidade adquirida ao investigar as respostas humoral e celular após vacinação.

Divulgação dos resultados do estudo: Os dados e materiais originais serão utilizados somente para esta pesquisa e ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de dez anos, após isso serão destruídos. Os resultados obtidos na pesquisa serão analisados e divulgados em palestras, conferências, periódicos científicos ou outra forma de divulgação que propicie o repasse do conhecimento para a sociedade e para autoridades normativas em saúde, nacionais ou internacionais, de acordo com as normas legais regulatórias de proteção nacional ou internacional. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES SOBRE SUA PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO

O (a) Senhor (a) pode se recusar a responder, ou participar de qualquer procedimento e de qualquer questão que lhe traga constrangimento, podendo desistir de participar da pesquisa em qualquer momento sem nenhum prejuízo ou perda de direitos que normalmente já possui.

Não há compensação financeira relacionada à sua participação, que será voluntária. Se existir qualquer despesa adicional relacionada diretamente à pesquisa (tais como, passagem para o local da pesquisa, alimentação no local da pesquisa ou exames para realização da pesquisa) ela será absorvida pelo orçamento da pesquisa. No entanto, se o profissional participante trabalha no mesmo local do centro de pesquisa, não haverá ressarcimento de despesas pessoais com o deslocamento para o local da entrevista.

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável Dayde Lane Mendonça da Silva, nos telefones (61) 2028-5530 e (61) 99271-2604, e Fernando Araujo Rodrigues de Oliveira, nos telefones (61) 2028-5021 e (61) 99658-7600, pesquisaclinica.hub@ebserh.gov.br.

Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina (CEP/FM) da Universidade de Brasília. O CEP é composto por profissionais de diferentes áreas cuja função é defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. As dúvidas com relação à assinatura do TCLE ou os direitos do participante da pesquisa podem ser

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

Página 3 de 4

esclarecidas pelo telefone (61) 3107-1918 ou do e-mail cepfm@unb.br, horário de atendimento de 08:30hs às 12:30hs e de 14:30hs às 16:00hs, de segunda a sexta-feira. O CEP/FM está localizado na Faculdade de Saúde/Faculdade de Medicina no 2º andar do prédio, Campus Universitário Darcy Ribeiro, Universidade de Brasília, Asa Norte.

Este estudo também foi analisado pela Comissão Nacional de ética em pesquisa (CONEP), órgão responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos, visando garantir a dignidade, os direitos, a segurança e o bem-estar dos participantes de pesquisas. Caso você tenha dúvidas e/ou perguntas sobre seus direitos como participante deste estudo ou se estiver insatisfeito com a maneira como o estudo está sendo realizado, entre em contato com o CONEP, no endereço SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte. CEP: 70719-040, Brasília-DF. Fone: (61) 3315-2150/ 3821 E-mail: cns@saude.gov.br; imprensa@saude.gov.br

Após ser apresentado(a) e esclarecido(a) sobre as informações da pesquisa, no caso de aceitar fazer parte como voluntário(a), pedimos que rubrique e date todas as páginas e assine este documento elaborado em duas vias. Cada via também será rubricada em todas as páginas e assinada pelo pesquisador responsável, devendo uma via ficar com você, para que possa consultá-la sempre que necessário.

(Nome do participante como escrito no documento de identidade)

Assinatura do participante

Data ____/____/____

(Nome do pesquisador responsável como escrito no documento de identidade)

Assinatura do pesquisador responsável

Data ____/____/____

(Nome do entrevistador como escrito no documento de identidade)

Assinatura do entrevistador

Data ____/____/____

Rubrica do participante: _____

Rubrica do pesquisador: _____

Página 4 de 4

ANEXO III (Artigo – Esboço)

Immunogenicity analysis in Brazilian healthcare workers vaccinated with COVID-19 immunizers: a cohort study.

Abstract

Background: Coronavirus 2, the causing agent of severe acute respiratory syndrome (SARS) has become a major global public health issue. To fight the pandemic, mass vaccination was recommended, which reduced the number of infections worldwide, with a significant drop in the number of severe cases and deaths. Although primary vaccination was initially effective against different variants, Omicron and its subvariants escaped immunity. Thus, bivalent vaccines were developed which include the ancestral strains plus Omicron BA.4/BA.5 (mRNA vaccine). The present study aimed to evaluate and compare the immunogenicity of a cohort of healthcare professionals vaccinated with the primary regimen, and then with first, second and bivalent boosters, through a 24-month period.

Methods: This is a real-world cohort study, with 5,061 healthcare workers recruited in Brazil. At the time of recruitment and at following planned intervals, at 6, 9, 12, 18, and 24 months after receiving the first COVID-19 vaccine and at 30 days after the booster vaccine, participants were interviewed and had blood samples collected. The anti-S RBD titers were quantified using a chemiluminescent microparticle immunoassay.

Results: Of the 5,061 participants, 80.0% were female, 99.0% received the primary vaccination regimen, 76.0% received the primary regimen with CoronaVac immunizer and 95.0% received BNT162b2 as the first booster. Of those eligible to receive the bivalent vaccine, only 35.4% were vaccinated. Anti-S RBD titers after seroconversion from the primary regimen were 2,990.0 AU/mL, increasing to 25,058.0 AU/mL after vaccination with the first booster and even higher after the bivalent vaccine, with titers at 33,208.0 AU/mL.

Conclusion: Although the primary regimen promoted an immunological response, booster vaccines were necessary to increase and maintain the anti-S RBD titers independently of the primary vaccine regimen adopted.

Funding: Brazilian Ministry of Health.

Introduction

Coronavirus 2, the causing agent of severe acute respiratory syndrome (SARS) first reported in December 2019, has become a major global public health issue. The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic mobilized scientists around the world to quickly develop therapies to treat the disease and its complications, but mainly to develop effective immunization. In Brazil, three different vaccine platforms were adopted. These were CoronaVac (Sinovac), ChAdOx1-S (ChAdOx1 nCoV-19 - AstraZeneca), BNT162b2 and BA.4/BA.5 (Pfizer – mono and bivalent vaccine, respectively).

To fight the pandemic, mass vaccination was recommended, which reduced the number of new daily infections worldwide^{1,2}, with a significant drop in the number of severe cases and deaths, showing that the vaccines were indeed effective. However, real-world studies are essential to monitor safety and duration of vaccines immunogenicity. Indeed, four years after the start of the pandemic, studies on COVID-19 vaccines are still ongoing, with the attention focused on the analyses of immunogenicity and safety. Also necessary attention has been dedicated to updates on available vaccine platforms, considering that during the period the virus has undergone several mutations and new variants, such as Omicron, have surged and caused new waves of infection.

Studies have shown that immunogenicity, established through quantification of neutralizing antibody titers against SARS-CoV-2, on average drops at 6 months after receiving the complete primary regimen³⁻⁵, indicating the need for booster doses^{4,6}. The booster doses raise antibody levels for up to four weeks⁴ and manage to prevent new cases or reinfections with SARS-CoV-2⁶. However, a drop in antibody titers also occurs in a similar manner to that observed with the primary regimen⁷. Although primary vaccination was initially effective against different variants, Omicron and its subvariants⁸ escaped immunity induced by early vaccination or previous infection by a different variant, being necessary to adjust the vaccine formulations. Thus, bivalent

vaccines that included the ancestral strains plus Omicron BA.4/BA.5⁹ (Pfizer mRNA vaccine) were developed. So far, results from real-world studies have demonstrated that bivalent vaccines promote seroconversion within 28 days, with antibodies more effective in neutralizing Omicron strains⁹.

In Brazil, the BNT162b2 vaccine was replaced by the bivalent vaccine in 2023, but it is not yet known whether bivalent vaccines were in fact superior to monovalent ones. Furthermore, the Brazilian population includes many ethnicities with great genetic diversity. Additionally, Brazil is a country with continental dimensions and the management of the pandemic greatly varied from region to region. All these may influence seroconversion rates and vaccine efficacy¹⁰. For example, Silva et al (2022)¹¹ showed that in Brazil the efficacy of the CoronaVac vaccine as the primary regimen was 39.4% while Palacios et al (2020)¹² observed, also in Brazil, an efficacy of 50.7%. However, the CoronaVac vaccine had an efficacy of 83.5% in Turkey, Tanrioer et al (2021)¹³ and 65.9% in Chile, Jara et al (2021)¹⁴. Thus, we wanted to investigate how the immunogenicity of the vaccinated population living in different regions of Brazil evolved over time. The present study aimed to evaluate and compare the immunogenicity of a cohort of healthcare professionals vaccinated with a primary regimen, and then with first, second and bivalent boosters, over a period of 24 months. Booster doses have been shown to increase antibody titers, however, seroconversion triggered by the bivalent vaccine induced antibody titers higher than any monovalent vaccine.

Methods

Study design and participants

We carried out a phase 4 observational multicenter prospective cohort to evaluate the immunogenicity of healthcare professionals who received vaccines for COVID-19 available in Brazil.

Volunteers over the age of 18 working in the public and/or private healthcare system in the Central-West, Northeast, South, and Southeast regions of Brazil were recruited. As this was a real-world observational study, the exclusion criteria included individuals who had been vaccinated for COVID-19 in a clinical trial. Vaccinated or unvaccinated individuals were eligible to participate in the study, regardless of their history of previous COVID-19 infections, comorbidities, and type of work performed.

Cohort participants were separated into distinct groups, according to the status of their vaccination regimen (unvaccinated, vaccinated with the primary regimen, vaccinated with a first booster, vaccinated with a second booster, and vaccinated with bivalent) and into subgroups, according to the type of vaccine received. Participants were recruited through communication channels between September 27, 2021 and December 31, 2022, and included health professionals of all levels of education, such as technicians, nurses, and physicians.

According to the vaccine regime received, individuals were included in one of the following groups:

Primary Regimen: those who only received the primary regimen.

Booster-1: Individuals who received the primary regimen + one dose of booster.

Booster-2: Individuals who received the primary regimen + two doses of booster.

Biva: Individuals who received at least the primary regimen + bivalent vaccine.

The control group was formed by those who did not receive any vaccine.

The study protocol was approved by the Ethics Committee of the Faculty of Medicine of the University of Brasilia and by the National Committee of Ethics in Research (CAAE 49561321.0.1001.5558). The free and informed consent form was signed by the volunteers before screening.

Procedures

At the beginning of the study, participants were asked for their vaccination data and five visits were scheduled at established intervals, occurring at 6, 9, 12, 18, and 24 months after the first COVID-19 vaccine. Unvaccinated participants carried out the same number of visits and the date established to create the agenda was January 17, 2021, when vaccination for COVID-19 began in Brazil. Participants who received booster doses were invited to complete additional visits up to 30 days after vaccination.

During the visits, questionnaires were filled out on the RedCap platform with information on sociodemographic data, clinical characteristics, vaccination data, history of COVID-19 and its severity, and exposure to COVID-19 in and out the work environment. The questionnaire from the first visit and those carried out after vaccination with booster doses also collected data on possible adverse events that may have occurred.

At every visit, blood samples were collected to quantify spike protein SARS-CoV-2 receptor binding domain (RBD) IgG. After collection, samples were centrifuged and stored in a -80°C freezer. Anti-S RBD titers in serum samples was quantified using chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) on the Architect i System and SARS-CoV-2 IgG II Quant – 6S60-22 kit, both from Abbott (Abbott Ireland Diagnostics Division, Finisklin Business Park Sligo - Ireland).

Statistical analysis

As this is a real-world study, the groups have different numbers of participants. Therefore, the Mann-Whitney U test was applied in all analyses with $p < 0.05$

for statistical difference. Analysis was carried out in R program for Windows (Version 4.3.3).

Results

Sociodemographic data

Table 1 shows the sociodemographic data from the SEVACOV cohort study of 5,061 health care workers in Brazil. In our cohort, most participants were female (n=4,087, 80.7%) and the age of the population was between 31 and 40 years old (n=1,718; 33.9%). A total of 48.7% (n= 2,468) self-declared to be black, while 47.4% (n=2,402) self-declared to be white. Most workers had college degrees with some specialization (n=1,925; 38.0%). The most common occupation in our study was nursing technician (n=1,506 participants; 29.7%) with a monthly declared income between $\geq$ USD 1.002,62 - 2.005,25 (n=1,720, 34.0%).

Variable	N (%)
Sex	
Female	4087 (80.7%)
Male	956 (18.9%)
Missing	18 (0.36%)
Total	5,061 (100%)
Age, years	
≤ 30	753 (14.9%)
31 – 40	1718 (33.9%)
41 – 50	1482 (29.3%)
51 – 60	850 (16.8%)
> 60	258 (5.1%)
Race	
Asian	110 (2.1%)
Black	2468 (48.7%)
White	2402 (47.4%)
Indigenous	11 (0.2%)
Not informed	35 (0.7%)
Missing	35 (0.7%)
Education	
Technical course	978 (19.3%)
College degree	1211 (23.9%)
Specialization	1925 (38.0%)
Master and/or doctorate degree	899 (17.7%)
Not informed	13 (0.2%)
Missing	35 (0.7%)
Occupation	
Nurse	1282 (25.3%)
Nurse Technician	1506 (29.7%)

Physician	700 (13.8%)
Others	1573 (31.1%)
Income	
≤ USD 401,05	130 (2.5%)
≥ USD 401,05 – 1.002,62	1182 (23.3%)
≥ USD 1.002,62 - 2.005,25	1720 (34.0%)
≥ USD 2.005,25 - 4.010,50	1061 (20.9%)
≥ USD 4.010,50 - 6.015,76	297 (5.8%)
≥ USD 6.015,76	180 (3.5%)
Not informed	455 (9.0%)
Missing	36 (0.7%)

Vaccination schedule

The immunization campaign in Brazil against COVID-19 adopted the following vaccines: ChAdOx1-S (ChAdOx1 nCoV-19 - AstraZeneca), CoronaVac, Ad26.COV2.S (Janssen), BNT162b2 (Pfizer monovalent), and BA.4/BA.5 (Pfizer bivalent). The SEVACOV-PRO study included both vaccinated and unvaccinated healthcare workers. Of the 5,061 participants, 5,013 (99.0%) received the primary vaccination regimen and 14 (0.2%) chose not to be vaccinated. Among vaccinated participants, 3,813 (76.0%) received two-doses of the CoronaVac immunizer. Among the participants who had completed the primary vaccination regimen, the Brazilian Health Ministry recommended as the first booster, a vaccine different than the one taken before. Thus, 4,453 (95.0%) received BNT162b2 as the first booster.

Next, 2,840 (56.1%) participants received a second booster, and among these 1,166 (41.0%) received the BNT162b2. In Brazil, the mRNA-1273 vaccine (Moderna) was not included in the vaccination regimen. However, two (0.04%) participants received this vaccine while traveling abroad, with one (0.02%) being immunized as a first booster and one (0.04%) receiving it as a second booster. The BA.4/BA.5 became available in Brazil in 2023 and was indicated for individuals who had completed the primary regimen. In our cohort 1,794 (35.4%) received this vaccine. Our findings reveal that in our cohort most individuals completed the vaccination schedule up to the second booster.

	Participants 5.047 (99.7%)	ChAdOx1- S	CoronaVac	Ad26.COV2.S	BNT162b2	BA.4/BA.5
Primary regimen	5.013 (99.0%)	1.103 (22.0%)	3.813 (76.0%)	1 (0.02%)	96 (1.9%)	
1 booster	4.687 (92.6%)	161 (3.4%)	17 (0.3%)	55 (1.1%)	4.453 (95.0%)	
2 boosters	2.840 (56.1%)	962 (33.8%)	40 (1.4%)	671 (23.6%)	1.166 (41.0%)	
Bivalent booster	1.794 (35.4%)					1.794 (100%)

Presence of antibody following different vaccination regimens

In our study population, most participants were vaccinated. To evaluate the immunogenicity induced by the vaccines, we quantified anti-S RBD IgG antibody titers. Figure 1 shows the immunized population separated into different groups according to the vaccination schedule and type of vaccine received. Most participants entered the study having completed the primary regimen (n=4,385) or after immunization with the first booster (n=3,495). In Figure 1A, the titer values of the primary group of participants who completed only the primary regimen and were followed for up to 810 days are represented. Figure 1B shows the titer values of the Booster-1 group, which were those immunized only with the first booster and who were followed for up to 630 days. Figure 1C shows titer values of the Booster-2 group, which were those who received the second booster, but not the bivalent vaccine and were followed for up to 450 days. In Figure 1D, we show the antibody titers of the Biva group, which includes participants who received the bivalent vaccine and were followed for up to 180 days. Moreover, we stratified the participants according to the vaccines received, presenting those who received CoronaVac as the primary regimen and BNT162b2 as the first booster (Corona + BNT group -Figure 1E) and finally, those who received ChAdOx1-S as the primary regimen and BNT162b2 as the first booster (ChAdOx + BNT - Figure 1F).

Participants who completed only the primary regimen (Figure 1A) had 2,990.0 AU/mL of anti-S-RBD antibody titers median during a 15-90-day period. However, these titer levels dropped significantly in the following two time-

intervals. At 271–360-day period, antibody titers increased (median of 4,899.0 AU/mL). This is the time when the Omicron variant spread in Brazil.

The group vaccinated with the first booster (Figure 1B) showed higher anti-S RBD titers between 15 - 90 days after immunization, with a median of 25,058.0 AU/mL. Although titers at further time-intervals were lower when compared to 15 - 90 days after immunization, the median values in those who received the first booster were at least twice as high as those who only completed the primary regimen (4,899.0 vs 10,086.5 AU/mL at 271-360-day period for group Primary and Booster-1, respectively; 5673.0 vs. 11,077.5 AU/mL at 541- 630-day period for group Primary and Booster-1, respectively).

Although the second booster (Booster-2) occurred at the time of the second wave of Omicron in Brazil, the Booster-2 group had the highest antibody titer between 15 - 90 days after immunization but that was 1.47 times lower than that of the Booster-1 group (17,011.0 AU/mL vs 25,058.0 AU/mL). Similar to what we observed with the Primary and Booster-1 groups, titers of those immunized with the second booster dropped over time. However, titers remained 1.3 times higher than that observed with Booster-1 at 181-270-day period (11,787.0 AU/mL vs. 9,062.0 AU/mL)

For the Biva group, titer values were 33,208.0 AU/mL at 15-90 days after vaccination. Comparing the titers of the Biva group with that of both Booster-1 and Booster-2, we observe that antibody titers were kept high during the Omicron BA.4/BA.5 wave (22,446.0 AU/mL at 91-180-day period vs. 12,621.0 AU/mL for Booster-1 and 12,008.5 AU/mL for Booster-2 at the same time-interval.). After six months of immunization, titers in the Biva group were almost two times higher than all other groups.

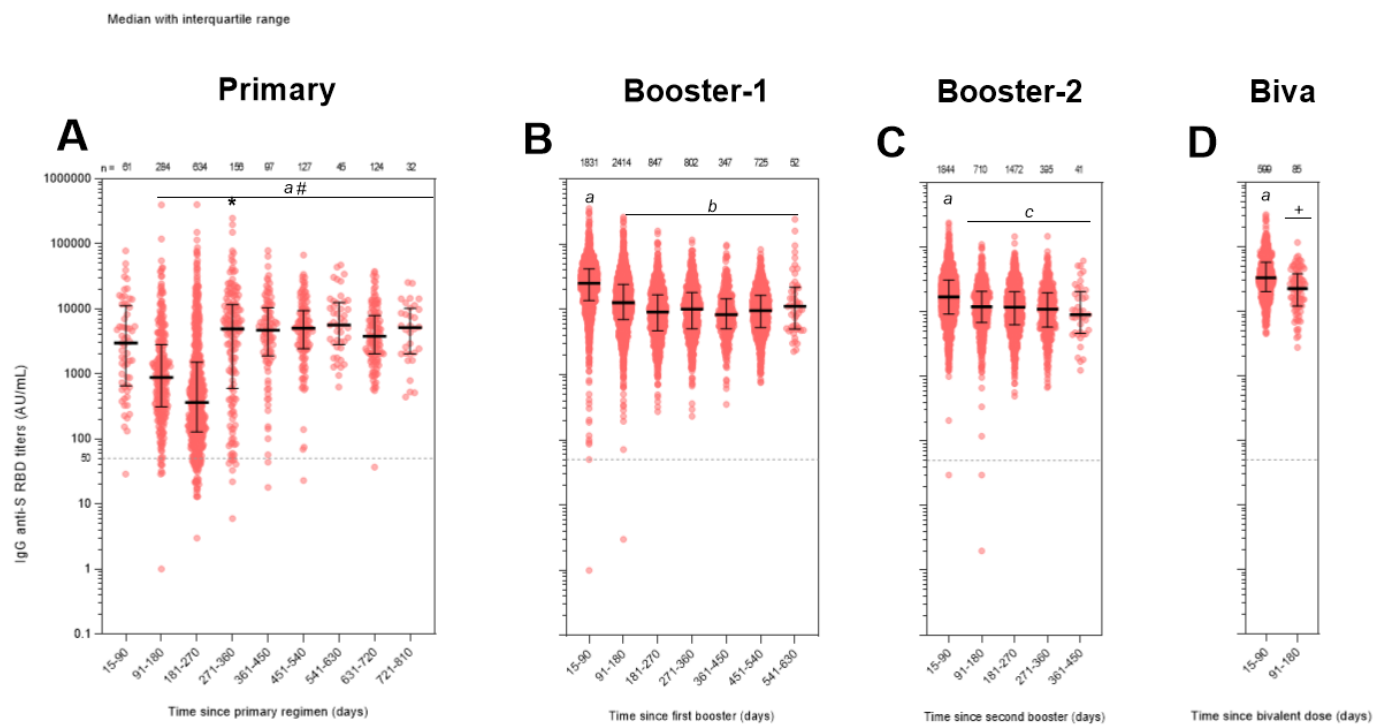
The data from the primary vaccine regimen show that in the Corona + BNT group (Figure 1E) CoronaVac primary regimen alone showed 5.3 times higher anti-S RBD titers over the 15-90-day period than the ChAdOX primary regimen alone in the ChAdOx + BNT group (Figure 1F), with a median of 5,274.0 AU/mL vs. 999.0 AU/mL. Furthermore, at 91-180-day period, those who received

CoronaVac (Figure 1E) showed a marked decrease in titers (285.5 AU/mL), different from that observed in those vaccinated with ChAdOx1-S (Figure 1F), who in fact had a subtle increase in relation to first measurement (1,123.5 AU/mL).

Interestingly, at 91-360-day period, in which titers were quantified twice, there was an increase in titers ranging from 285.5 AU/mL to 4,781.0 AU/mL in the Corona + BNT group and from 1,123.5 AU/mL to 4,008.0 AU/mL in the ChAdOx + BNT group. The Omicron variant wave occurred in Brazil during the 271-360-day period, which may explain the 16.7-fold increase in those vaccinated with CoronaVac and 5.3 times in those vaccinated with ChAdOx1-S, observed even before the booster vaccine, indicating that this increase may have been triggered by infection.

Our analyzes show that, regardless of the vaccine received as the primary regimen, boosters can increase anti-S RBD titers up to 5.6-fold, confirming that the booster dose was important for rescuing the immune response.

Despite the significant increase in titers in both groups, when comparing the 15-90-day period after the first booster, the anti-S RBD titers of the Corona + BNT group were 28,541.0 AU/mL vs. 16,842.0 AU/mL from the ChAdOx + BNT group. This difference shows that heterologous vaccination was even better in Corona + BNT, which had a 5.6-fold increase in titers while ChAdOx + BNT had a 4.2-fold increase. These results show that booster vaccines are essential for maintaining high titers of anti-S RBD and that heterologous boosting improves the immunological response.



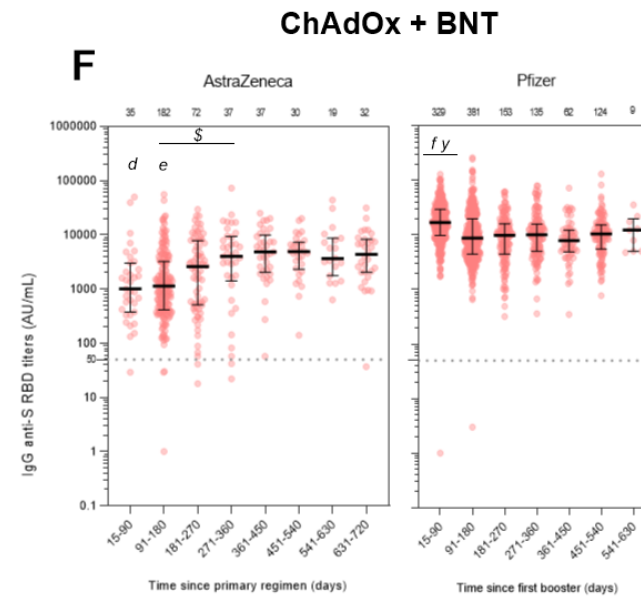
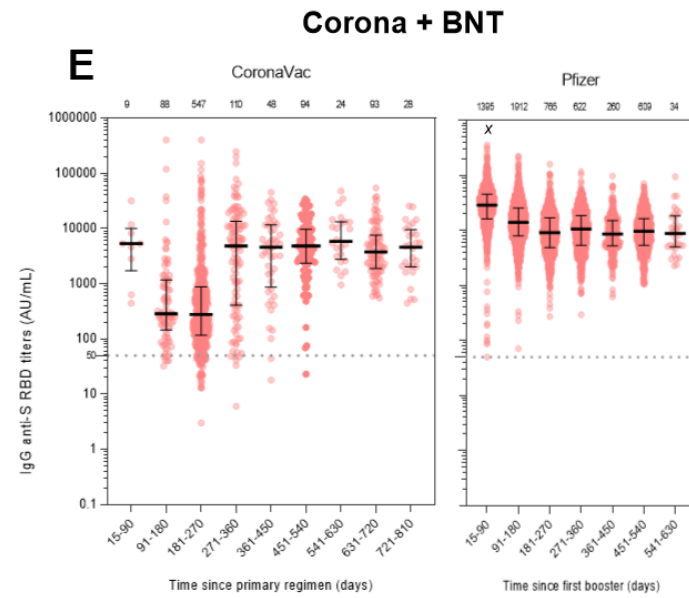


Figure 1. Anti-S RBD titers investigated at different time periods. Primary group (A), Booster-1 group (B), Booster-2 group (C), Biva group (D), Corona + BNT group (E) and ChAdOx + BNT group (F). The data is presented in the format of individual values ranging from the first quartile (Q1) to the third quartile (Q3) of the distribution and the range represents the interquartile range (IQR). The median is represented by a line in the column.

a $p < 0.05$ compared with 15 – 90-day period of Primary group.
***** $p < 0.05$ at 181 – 270-day period compared to 271 – 360-day period in Primary group.
$p < 0.05$ at 271 – 360-day period compared to Primary group medians.
b $p < 0.05$ compared at 15 – 90-day period of Booster-1 group.
c $p < 0.05$ compared at 15 – 90-day period of Booster-2 group.
+ $p < 0.05$ compared at 15 – 90-day period and 91 – 180-day period of Biva group.
d $p < 0.05$ at 15 – 90-day periods compared to Corona + BNT group vs. ChAdOx + BNT group.
e $p < 0.05$ at 91 – 180-day periods compared to Corona + BNT group vs. ChAdOx + BNT group.
\$ $p < 0.05$ at 91 – 360-day periods compared to Corona + BNT group vs. ChAdOx + BNT group.
f $p < 0.05$ at 15 – 90-day periods compared to Corona + BNT group vs. ChAdOx + BNT group.
x $p < 0.05$ at 15 – 90-day period after first booster compared to 271 – 360-day period after primary regimen into Corona + BNT group.
y $p < 0.05$ at 15 – 90-day period after first booster compared to 271 – 360-day period after primary regimen into ChAdOx + BNT group.

Statistical analysis Mann-Whitney U test; $p < 0.05$

COVID-19 vaccine boosters trigger different levels of anti-S RBD antibodies

Some vaccines, such as yellow fever and hepatitis b require the administration of booster doses at pre-established time intervals so that the amounts of antibodies produced remains at levels of immunity that protect against the respective pathogens. With SARS-CoV-2 vaccines, we observed that anti-S RBD titers began to decline within a short period after completing the primary regimen regardless of the platform administered, therefore booster doses have been indicated.

In Figure 2, we show the titers in samples collected at 0-90-day period before receiving the booster dose and at 15 – 60-day period after immunization with the booster.

Figure 2A shows the anti-S RBD titer at baseline (median of 337.0 AU/mL), and after the first booster, in which titers increased by 78.8 times, reaching 26,571 AU/mL. Figure 2B shows a similar scenario, but at baseline titers were higher than those at baseline in the Booster-1 group (10524.0 AU/mL median)

and increasing 1.92 times after the second boost (20,186 .5 AU/mL median). The first booster promoted the greatest boost in antibody titers.

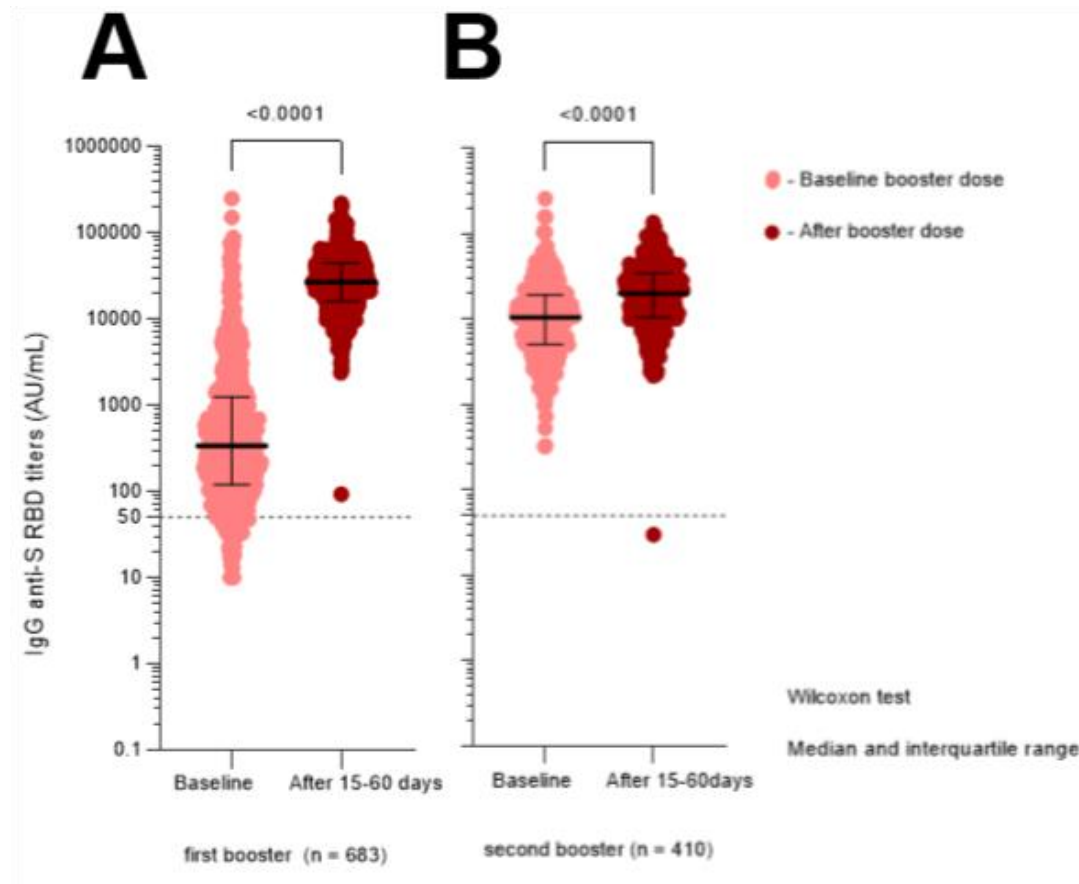


Figure 2. Anti-S RBD titers at baseline and after immunization with the first booster (A) and second booster(B). The data is presented in the format of individual values ranging from the first quartile (Q1) to the third quartile (Q3) of the distribution and the range represents the interquartile range (IQR). The median is represented by a line in the column. Statistical analysis Wilcoxon test; $p < 0.05$

Bivalent dose increased antibody titers

After the distribution of vaccines and the immunization worldwide, SARS-CoV-2 transmission rate dropped. However, like some other viruses, SARS-CoV-2 mutations overcame the protection generated by immunization. Some of the mutations generated new circulating strains that once again increased the incidence of COVID-19 cases. In addition to the recommended booster doses, the m-RNA vaccine platform was updated by adding the Omicron BA.4/BA.5 strain in an attempt to control the increase in case numbers. Figure 3A shows the titers in individuals who received the first booster, but not the second, and later on received the bivalent vaccine while Figure 3B shows the titers in individuals who received the second booster and then the bivalent vaccine

Although those immunized with the first booster only (Figure 3A) showed seroconversion in up to 90 days, the administration of the bivalent vaccine in this group did not increase the antibody titers beyond what had been already observed. Titer values measured during the 15-90-day period increased from 23,355.0 AU/mL to 28,572.0 AU/mL. In 91–180-day period, the titers in Booster-1 group was 11,313.0 AU/mL while Biva group was 12,897.0 AU/mL.

Differently from what was previously observed, group Booster-2 Figure 3B shows that at the 15-90-day period their antibody titers increased by 1.85 times when individuals received the bivalent vaccine (18,226.0 AU/mL vs. 33,749.5 AU/mL). At the 91-180-day period, the titer remained 1.76 higher in those who received the bivalent vaccine (13,002.0 AU/mL vs. 22,879.0 AU/mL). This confirms that the bivalent dose performed better in those who received two booster doses.

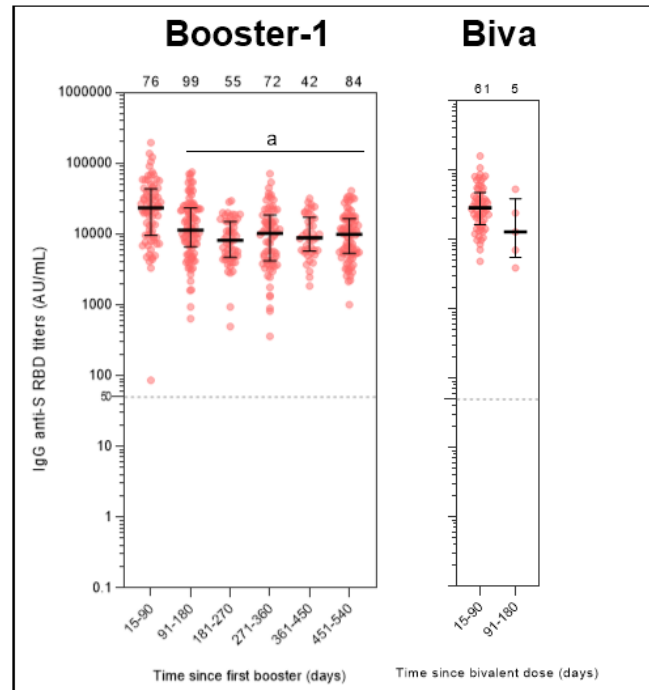
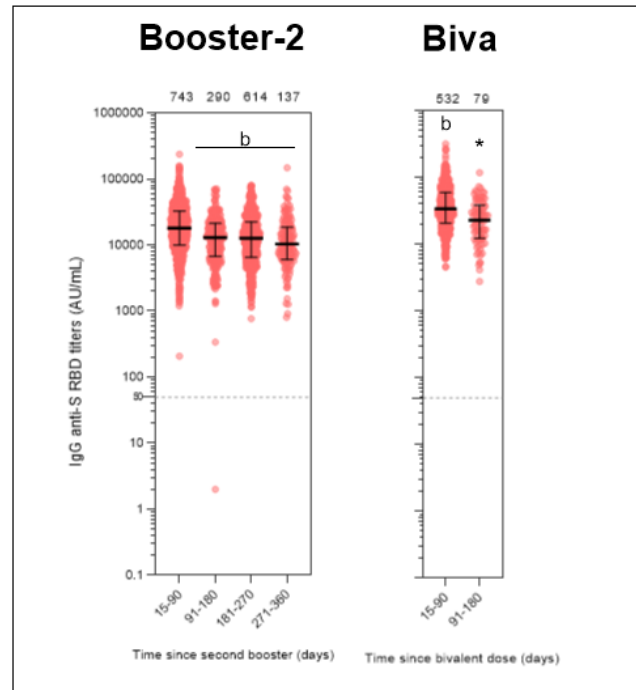
A**B**

Figure 3. Anti-S RBD titers comparison between bivalent dose - Biva group at different times of first booster - Booster-1 group (A) and second booster - Booster-2 group (B). The data is presented in the format of individual values ranging from the first quartile (Q1) to the third quartile (Q3) of the distribution and the range represents the interquartile range (IQR). The median is represented by a line in the column.

a $p < 0.05$ compared at 15 – 90-day period of group Booster-1.

b $p < 0.05$ compared at 15 – 90-day period of group Booster-2

* $p < 0.05$ at 15 – 90-day period compared to 91 – 180-day period in Biva group and Booster-2 group.

Statistical analysis Mann-Whitney U test; $p < 0.05$

Impact of the Omicron variant on antibody titers

Both vaccination and infection can trigger our immune system to produce antibodies. For SARS-CoV-2, assessing whether the IgG anti-S RBD antibodies were triggered by vaccination or infection would be challenging, considering that COVID-19 was a pandemic of massive proportions. Besides, since in Brazil we used CoronaVac, an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine, quantifying the nucleocapsid antibodies as the strategy to identify antibody production induced by infection would also be very difficult.

Thus, we assessed the impact of SARS-CoV-2 infections on antibody titers of vaccinated individuals during the Omicron and its subvariants waves (Figure 4). The Omicron variant was chosen for inclusion in this analysis because it was the last variant of global concern, leading us to present the timeline of those immunized with two doses (Figure 4A), the first booster (Figure 4B), and the second booster (Figure 4C).

Figure 4A shows participants who had taken only the primary regimen. Before the first peak of Omicron infection, we can see that many individuals had lower anti-S RBD titers compared to participants who had been vaccinated with the first booster vaccine (Figure 4B). However, after Omicron first wave even though these individuals did not take any other vaccine, the antibody titers increased.

Figure 4B shows that for the Booster-1 group, the Omicron wave did not change the effect of the vaccination on antibody titers, since these individuals already had high titers when the Omicron wave hit; most of the participants were between 15 - 180 days after immunization. The data presented in Figure 4C show that participants received the second booster after the peak of the first Omicron wave and there was not an increase in antibody titers after the boost, suggesting that a ceiling effect was at place.

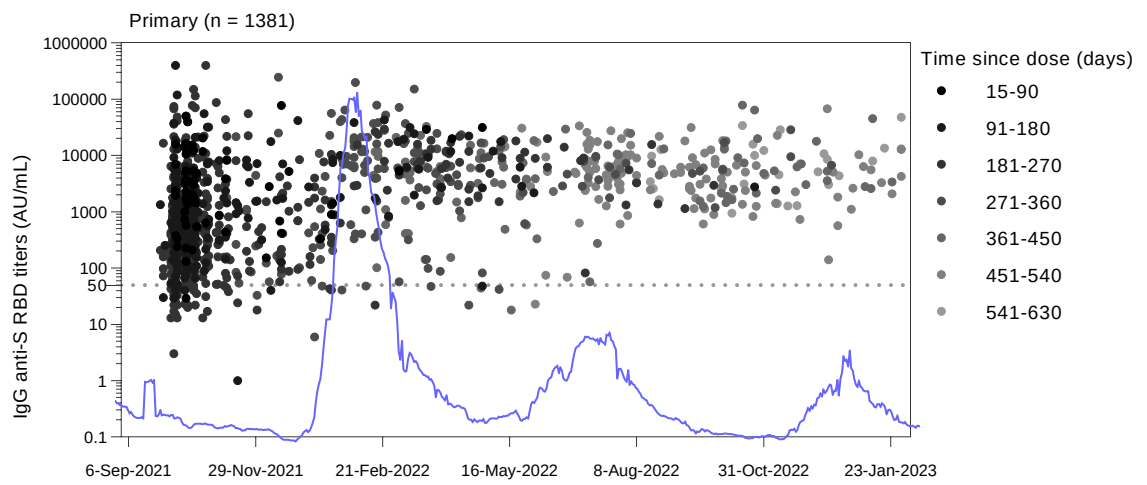
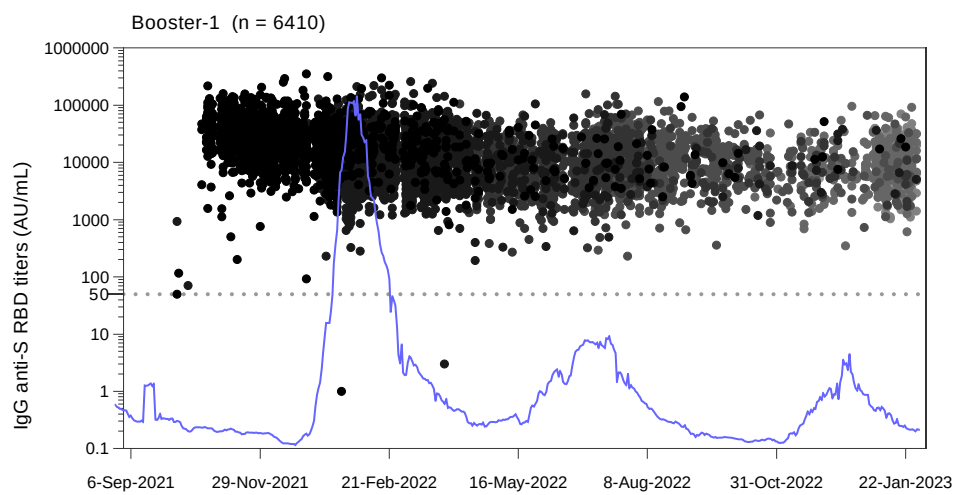
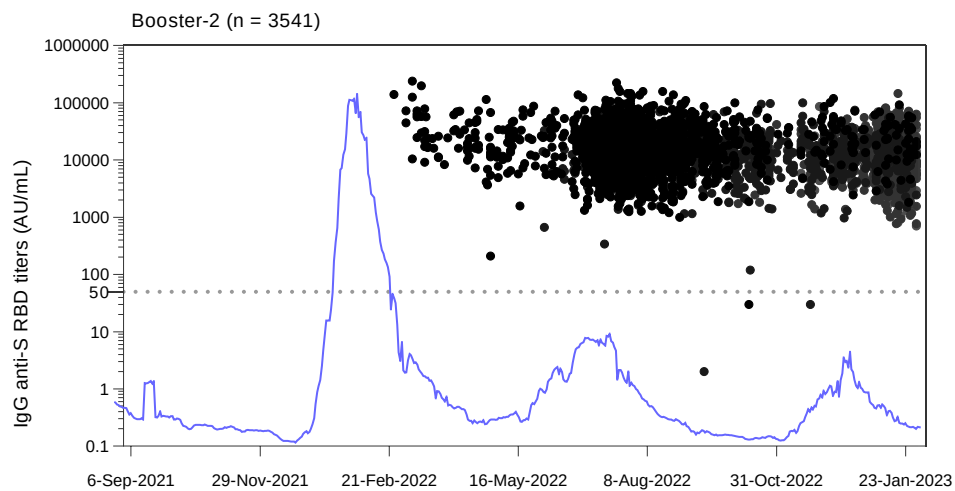
A**B****C**

Figure 4. Effect of Omicron variant waves on anti-S RBD titers in the Primary group (A), Booster-1 group (B) and Booster-2 group (C).

Discussion

In this study, we report the results of a phase 4 cohort study evaluating the immunogenic response during a 24-month period in Brazilian healthcare workers immunized with different COVID-19 vaccine regimens. We observed that all boosters, including the bivalent vaccine, induced anti-S RBD titers higher than the primary vaccination regimen.

In Brazil the primary vaccination regimen was mostly with CoronaVac vaccines, while boosters were done with BNT162b2 vaccine (Table2). As we show in Figure 1, booster doses increased anti-S RBD antibodies titers (up to 79 times), independently of which primary regimen was used and this heterologous regimen sustained such levels for at least one year after booster vaccination. In Brazil, healthcare workers received mostly CoronaVac as primary regimen and only 22% received ChAdOx1-S vaccine. Clemens et al (2022)¹⁵ observed similar results when participants received a booster vaccine. Anti-S RBD IgG antibodies induced by a heterologous booster with BNT162b2 vaccine was 152 times higher in comparison with those who received only CoronaVac as the primary regimen. These authors also compared a heterologous booster with a homologous booster vaccine and showed that at 28 days after boost all groups tested (BNT162b2, ChAdOx1 and Ad26.COV2.S) had more anti-S IgG production when compared to those who received CoronaVac. These findings suggest that a heterologous regimen is more effective in inducing antibody titers.

However, whether a second booster could induce a yet better response than the first booster was an open question. Therefore, we compared the titers in samples from individuals who received the first and second boosters. We found that the first booster induced an increase in anti-S RBD titers of almost 80% (Figure 2A), while the second booster had an increase of approximately 2% (Figure 2B). It is important to emphasize that the baseline presented at the time of the second booster was already 31 times higher than the baseline in individuals who received the first booster. Therefore, the increment in titers induced by the second booster shows that a ceiling effect was occurring in our

sample. Munro et al (2022)¹⁶ observed similar results, showing that although the second booster also induced an increase of up to 2.2-fold in anti-S RBD titers, this increase was less significant than the 15.3-fold increase that occurred after the first booster¹⁶.

As the Omicron variant produced new waves of infection and considering that antibody titers against SARS-CoV-2 drop over time, the BA.4/BA.5 bivalent vaccines was offered in Brazil in 2023. Interestingly, the bivalent vaccine led to higher anti-S RBD antibody titers in individuals who had completed the primary regimen and then were vaccinated with 2 boosters (Figure 3), if compared to individuals who received one booster only. Although we have not evaluated which SARS-CoV-2 variant was circulating in our cohort during vaccination, our data indicate that an additional booster before bivalent vaccine induced a better antibody response, independently of the circulating variant. Bennett et al (2024)¹⁷ also showed that bivalent vaccines induced better neutralizing antibody responses when compared to ancestral strain monovalent vaccine or the specific BA.5 monovalent vaccine given to healthcare workers. Their study used the first generation of bivalent vaccines, with the ancestral strain plus Omicron BA.1, while we used an updated bivalent vaccine.

The effectiveness of the BA.4/BA.5 bivalent booster vaccine in preventing hospitalization and death in the United States was evaluated by Lin et al (2023)¹⁸. These authors showed that the bivalent booster had 67% effectiveness two weeks after boost. Interestingly, there was no difference when they evaluated the effectiveness of BA.4/BA.5 bivalent booster at the period of prevalence of the BQ.1/XBB subvariants waves, indicating that this bivalent vaccine was still effective even though the virus had evolved¹⁸.

Anti-S RBD antibodies could be induced either by vaccination or natural infection. Our longitudinal data analyses show that during COVID-19 waves in Brazil, antibody titers remained higher in individuals who had received booster vaccines (Figure 4). After the Omicron wave, we observed an increase in

antibody titers in individuals who had completed the primary vaccine regimen only. However, individuals who received one or two boosters mostly sustained higher levels of antibody titration. One could argue that antibody titers do not directly correlate to vaccine efficacy, since we still have the cellular immune response, which we did not evaluate in this study. However, neutralizing antibodies are a part of the antibodies detected at the anti-S RBD screenings, and both humoral and cellular immune response could improve protection against SARS-CoV-2. Sanada et al. (2022)⁷ evaluated both anti-S RBD titers and neutralizing antibody activity against SARS-CoV-2 in a healthcare workers cohort vaccinated with one or two boosters and observed a similar profile, i.e., after booster vaccination both anti-S RBD titers and neutralizing antibody activity increased.

Besides, it is important to understand the chronological time when vaccination was first offered in Brazil, with CoronaVac being the only vaccine available at the time. Other vaccines became available a few months later. Although the data of phase 3 study showed an effectiveness of 50,7%, which is not very high¹², CoronaVac was extremely important to mitigate the number and severity of COVID-19 cases as well as COVID-19 - related deaths in our population during a period of political instability and uncertainty when there was no major efforts to acquire other vaccines in a timely manner. Furthermore, our data agree with that from Clemens et al (2022)¹⁵ that a heterologous booster after two doses of CoronaVac improved anti-S RBD antibody titers and we show that this improvement is sustained for 24 months.

Our study has some limitations. Our cohort participants were mostly females, a reflection of the healthcare workers environment in Brazil and in other countries^{7,9}. Our intention was to also carry out comparisons of the immunological profile between unvaccinated and vaccinated individuals. However, unfortunately due to the lack of interest in participating in the study on the part of unvaccinated individuals, the group was left with a quantity below the ideal for comparisons with statistical significance, allowing us to only describe the observed data. Also, we did not screen our cohort participants for

SARS-Cov-2 infection and the COVID-19 cases were self-reported. Thus, we cannot rule out that increase in antibody titers could have also been triggered by infection.

Our longitudinal study shows that booster vaccines are necessary to increase and maintain the anti-S RBD titers independently of the primary vaccine regimen used and could contribute to decision making in future vaccination programs.

Referências

1. Vasileiou E, et al. Interim findings from first-dose mass COVID-19 vaccination roll-out and COVID-19 hospital admissions in Scotland: a national prospective cohort study. *Lancet*. Apr – 2021, (397); 1646-57. doi: 10.1016/S0140-6736(21)00677-2.
2. Pritchard E, et al. Impact of vaccination on new SARS-CoV-2 infections in the United Kingdom. *Nature Medicine*. Aug – 2021, (27); 1370-1378. doi: 10.1038/s41591-021-01410-w.
3. Levin EG, et al. Waning Immune Humoral Response to BNT162b2 Covid-19 Vaccine over 6 Month. *N Engl J Med*. Oct – 2021, (385); e84. doi: 10.1056/NEJMoa2114583.
4. Decru B, et al. IgG Anti-Spike Antibodies and Surrogate Neutralizing Antibody Levels Decline Faster 3 to 10 Months After BNT162b2 Vaccination Than After SARS-CoV-2 Infection in Healthcare Workers. *Front Immunol*. Jun – 2022. (13). doi: 10.3389/fimmu.2022.909910
5. Dedroogh S, et al. Impact of timing and combination of different BNT162b2 and ChAdOx1-S COVID-19 basic and booster vaccinations on humoral immunogenicity and reactogenicity in adults. *Nature*. 2023, (13); 9036. doi: 10.1038/s41598-023-34961-8.
6. Monge S, et al. Effectiveness of mRNA vaccine boosters against infection with the SARS-CoV-2 omicron (B.1.1.529) variant in Spain: a nationwide cohort study. *Lancet Infect Dis*. Sep – 2022, (9); 1313-1320. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00292-4.
7. Sanada T, Honda T, Higa M, Yamaji K, Yasui F and Kohara M. Antibody response to third and fourth BNT162b2 mRNA booster vaccinations in healthcare workers in Tokyo, Japan. *J Infect Chemother*. Dec – 2022, (29); 339-346. doi: 10.1016/j.jiac.2022.12.012.
8. Kurhade C, et al. Low neutralization of SARS-CoV-2 Omicron BA.2.75.2, BQ.1.1 and XBB.1 by parental mRNA vaccine or a BA.5 bivalent booster.

Nature Medicine. Dec – 2022, (29); 344-347. doi: 10.1038/s41591-022-02162-x.

9. Tan NH, et al. Immunogenicity of bivalent omicron (BA.1) booster vaccination after different priming regimens in health-care workers in the Netherlands (SWITCH ON): results from the direct boost group of an open-label, multicentre, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. Aug – 2023, (23); 901-913. doi: 10.1016/S1473-3099(23)00140-8.

10. Zimmermann P, and Curtis N. Factors That Influence the Immune Response to Vaccination. *Clin Microbiol Rev*. Mar – 2019, 32, (2). doi: 10.1128/cmr00084-18.

11. Silva TC, et al. Effectiveness of CoronaVac, ChAdOx1 nCoV-19, BNT162b2 and Ad26.COV2.S among individuals with previous SARS-CoV-2 infection in Brazil: a test-negative, case-control study. *Lancet Infect Dis*. Mar – 2022, 22, 791-81. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00140-2.

12. Palacios R, et al. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated) Vaccine Manufactured by Sinovac – PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. *Trials*. Oct – 2020, 21 (853). doi: 10.1186/s13063-020-04775-4.

13. Tanriover MD, et al. Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomized, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. *Lancet*. Jul – 2021, 398: 213 – 222. doi: 10.1016/S0140.6736(21)01429-X.

14. Jara A, et al. Effectiveness of na Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine in Chile. *N Eng J Med*. Sep – 2021, 385, (10): 875 – 884. doi: 10.1056/NEJMoa2107715.

15. Clemens SAC, et al. Heterologous versus homologous COVID-19 booster vaccination in previous recipients of two doses of CoronaVac COVID-19

vaccine in Brazil (RHH-001): a phase 4, non-inferiority, single blind, randomised study. *Lancet*. Jan – 2022, (399); 521-529. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00094-0.

16. Munro APS, et al. Safety, immunogenicity, and reactogenicity of BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccines given as fourth-dose boosters following two doses of ChAdOx1 nCoV-19 or BNT162b2 and a third dose of BNT162b2 (COV-BOOST): a multicentre, blinded, phase 2, randomised trial. *Lancet Infect Dis*. Aug – 2022, 22, (8); 1131-1141. doi: 10.1016/S1473-3099(22)00271-7.

17. Bennett C, et al. Immunogenicity and Safety of Heterologous Omicron BA.1 and Bivalent SARS-CoV-2 Recombinant Spike Protein Booster Vaccines: A Phase 3 Randomized Clinical Trial. *J Infect Dis*. Nov – 2023, jiad508. doi: 10.1093/infdis/jiad508.

18. Lin DY, Xu Y, Gu Y, Zeng D, Sunny SK and Moore Z. Durability of bivalent boosters against Omicron subvariants. *N Eng J Med*. May – 2023. doi: 10.1056/NEJMc2302462.