

Como citar este artigo: Matos S, Almeida M, Duarte A, Miranda M. Determinação sequencial de Anticorpos IgG Anti-Spike SARS-CoV-2 seis meses após infecção Covid-19 em Profissionais de Saúde de um Hospital Central Português. Revista Portuguesa de Saúde Ocupacional online. 2022, 13, 13-22. DOI: 10.31252/RPSO.22.01.2022

DETERMINAÇÃO SEQUENCIAL DE ANTICORPOS IGG ANTI-SPIKE SARS-COV-2 SEIS MESES APÓS INFECÇÃO/COVID-19 EM PROFISSIONAIS DE SAÚDE DE UM HOSPITAL CENTRAL PORTUGUÊS

SARS-COV-2 SPIKE-PROTEIN IGG ANTIBODIES DECAY OVER SIX-MONTH, SEQUENTIAL MEASUREMENT IN COVID-19 HEALTHCARE WORKERS FROM A PORTUGUESE CENTRAL HOSPITAL

TIPO DE ARTIGO: Artigo Original

AUTORES: Matos S¹, Almeida M², Duarte A³, Miranda M⁴

RESUMO

Introdução

Os profissionais hospitalares estiveram expostos a elevadas e/ou repetidas cargas virais durante a pandemia de SARS-CoV-2/COVID-19. A duração e eficácia da imunidade pós-infecção permanece uma questão não cabalmente esclarecida. A determinação dos anticorpos séricos IgG anti-Spike/SARS-CoV-2 (IgG/anti-S) é a forma exequível de avaliar a imunidade contra este vírus.

Métodos

Identificaram-se 193 casos RT-PCR/SARS-COV-2 positivos de um total de 4200 profissionais de um centro hospitalar universitário, no período de março a maio 2020. Determinou-se a IgG/anti-S sérica por imunoensaio de quimioluminescência em três amostras trimestrais anonimizadas, para comparação das concentrações médias nos seis meses de observação (*cut-off* definido pelo fabricante: ≥ 1 AU/mL). Classificou-se a gravidade da doença em assintomática, ligeira/moderada e grave/muito grave.

Resultados

76,2% dos infetados eram mulheres com idade média (\bar{x}) $39,6 \pm 11,7$ anos (*versus* homens com idade média de $41,1 \pm 13,0$ anos). *Ratio* entre mulheres/homens de 3,2. 93,8% trabalhava em serviços de elevado risco e, quanto à categoria profissional, 72,5% era enfermeiro ou assistente operacional. Relativamente à gravidade, 7,8% teve infecção assintomática e 6,7% doença grave, com internamento. Alguns infetados recusaram participação no estudo serológico, tendo-se incluído 177 casos, maioritariamente de gravidade ligeira/moderada. Na primeira determinação, 73,5% apresentava IgG/anti-S positivo (144/166 amostras), com IgG/anti-S $\bar{x} = 12,5 \pm 9,1$ AU/mL, colhidos em $\bar{x} 50,3 \pm 15,3$ dias após início dos sintomas. Na segunda determinação, 47,9% de amostras positivas (80/167), com título $\bar{x} = 2,7 \pm 4,9$ UA/mL, aos $143,1 \pm 43,9$ dias. No último doseamento, 27,7% (31/112) positivas, com títulos $\bar{x} = 1,3 \pm 2,8$ AU/mL, aos $241,3 \pm 75,5$ dias após início dos sintomas.

Discussão

¹ Sara Alves de Matos

Interna de formação específica em Medicina do Trabalho, Centro Hospitalar Universitário do Porto; Mestranda em Saúde Ocupacional, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; Internato de Ano Comum, Centro Hospitalar Tâmega e Sousa; Mestrado Integrado em Medicina, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Nova de Lisboa. Colaboração na UC Saúde Ocupacional, ICBAS/UP. Morada para correspondência dos leitores: Serviço de Saúde Ocupacional, Largo Prof. Abel De Salazar, 4099-001 Porto. E-mail: saraalvesdematos@hotmail.com. <http://orcid.org/0000-0003-3567-8324>

² Maria José Costa de Almeida

Interna de Formação Específica em Medicina do Trabalho. 4450-676 Matosinhos. E-mail: zezinhaa@hotmail.com. <http://orcid.org/0000-0001-7075-6661>

³ Ana Sofia Duarte

Internato de Ano Comum no Hospital Padre Américo; quatro anos de internato em Ortopedia e Traumatologia CHEDV; interna 1º ano Medicina do Trabalho CHUP. 4405-537 Vila Nova de Gaia- E-mail: astduarte@gmail.com

⁴ Mário Luís Miranda

Assistente Hospitalar Graduado, Consultor em Imunoalergologia e Especialista de Medicina do Trabalho. 4470-825 Porto. E-mail: mariomiranda.sso@chporto.min-saude.pt



Verificou-se um decréscimo progressivo dos títulos de IgG/anti-S ao longo dos primeiros seis meses após doença, em consonância com os dados já publicados, apresentando 13% dos profissionais títulos abaixo do limiar de positividade um mês e meio após infecção, 52% aos quatro e 72% aos seis meses. Verificou-se ainda que, mesmo os com títulos positivos, aos seis meses, se aproximaram do ponto de corte, apresentando-se em curva descendente.

Conclusão

Estes resultados sugerem que a imunidade natural é fraca/escassa, reforçando que os profissionais infectados por SARS-CoV-2 devem ser vacinados contra a COVID-19. Esta medida, juntamente com as proteções coletivas e individuais adequadas, permitirá maximizar a segurança dos profissionais e doentes da instituição.

Palavras-chave: Anticorpos; SARS-CoV-2; COVID-19; Saúde Ocupacional

ABSTRACT

Introduction

Healthcare workers were heavily exposed to repetitive viral loads during the SARS-CoV-2/COVID-19 pandemic. The duration and effectiveness of post-infection immunity remains an unclear question. The determination of serum IgG anti-S/SARS-CoV-2 (IgG/anti-S) antibodies is the only feasible way to assess immunity against this virus.

Methods

We've identified 193 RT-PCR/SARS-CoV-2 positive from a total of 4200 healthcare workers from an university hospital between March-May 2020. Serum IgG/anti-S was determined by chemiluminescence immunoassay in three anonymized quarterly samples to comparison of mean concentrations over the six months of observation (cut-off defined by the manufacturer: ≥ 1 AU/mL). Disease severity was classified as asymptomatic, mild/moderate and severe/very severe.

Results

76.2% were infected women, with mean (\bar{x}) age 39.6 ± 11.7 year; men mean age 41.1 ± 13.0 years, and women/men ratio 3.2. 93.8% worked in high-risk areas and 72.5% were nurses or assistants. Regarding the severity, 7.8% had asymptomatic infection and 6.7% had serious illness with inpatient management. 8.3% refused to participate on serologic testing, so 177 participants were included. In the first determination, 73.5% had IgG/anti-S(+ve) (144/166 samples) with \bar{x} 12.5 ± 9.1 AU/mL, collected at $\bar{x} = 50.3 \pm 15.3$ days after symptoms onset. At the second time, 47.9% (80/167) had positive results, with IgG/anti-S $\bar{x} = 2.7 \pm 4.9$ UA/mL, $\bar{x} = 143.1 \pm 43.9$ days after symptoms. The third moment had 27.7% positive results, with IgG/anti-S $\bar{x} = 1.3 \pm 2.8$ AU/mL, $\bar{x} = 241.3 \pm 75.5$ days after symptoms.

Discussion

A progressive decrease in mean IgG/anti-S titers was evident during the first six months after SARS-CoV-2 infection, in consonance with the available data, with 13% of professionals presenting antibody levels below the threshold of positivity a month and a half after infection, 52% after four and 72% after six months. We also found that even those with positive titers, at six months, approached the cutoff point, showing a downward curve.

Conclusions

These results suggest that natural immunity is weak/scarce and reinforce that infected professionals should be vaccinated against COVID-19. This measure, together with the protective (collective plus individuals) actions, maximize workers protection against new infections, as well as the safety of patients of the institution.

Keywords: Antibodies; SARS-CoV-2; COVID-19; Occupational Health

INTRODUÇÃO

A infecção pandêmica COVID-19 causada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2, identificado em dezembro de 2019, colocou os sistemas de saúde perante desafios não expectáveis em tempos de paz, para os quais não dispunham dos meios humanos e materiais adequados. A elevada contagiosidade desta infecção revelou-se particularmente impactante nos profissionais de saúde hospitalares, tanto pela necessidade de continuar a assegurar a prestação direta de cuidados de saúde como, principalmente, pela exposição a um elevado número de pessoas infectadas, muitas das quais ainda assintomáticas ou sem diagnóstico etiológico estabelecido. Estas

especificidades do trabalho hospitalar, associadas à inconsistência das medidas de proteção coletiva e à manifesta insuficiência de equipamentos de proteção individual adequados nas fases iniciais da pandemia colocaram os serviços de saúde ocupacional na linha da frente da gestão desta crise sanitária. Assim, o reconhecimento das particularidades do exercício profissional na área da saúde determinou que a infecção pelo SARS-CoV-2, entretanto classificada como risco biológico emergente (agente de nível 3), de notificação obrigatória (1), passasse a ser reconhecida como doença profissional (2), no pressuposto de que estivesse associada a funções clínicas com risco potencial de exposição ao agente, não obstante a difícil diferenciação entre cadeias de transmissão intra-hospitalares (etiologia profissional em sentido estrito) e comunitárias extra-hospitalares.

O acervo de conhecimentos entretanto adquirido relativamente ao modo de transmissão, período de incubação, apresentação clínica, complicações e alternativas terapêuticas, não permitiu ainda esclarecer cabalmente a permanência da eficácia antiviral da imunidade adquirida, a longo prazo, nos indivíduos recuperados de COVID-19 aguda (3).

A infecção SARS-CoV-2/COVID-19, clinicamente pleomórfica, apresenta um espectro de gravidade que varia entre um estado de portador assintomático (potencialmente infeccioso) (4), de prevalência estimada entre 1,2 e 33% (5), até formas de doença ligeira (*influenza-like*), moderada, grave ou crítica. As manifestações clínicas podem configurar síndromes autolimitadas, incluindo sintomas ligeiros *flu-like* do trato respiratório superior, acompanhadas de hipertermia moderada, cefaleias e alterações neuro-sensoriais, até formas progressivamente mais graves, com manifestações agudas das vias aéreas inferiores, evoluindo potencialmente para pneumonia bilateral, síndrome de disfunção respiratória aguda (ARDS) e septicemia (6).

O diagnóstico é confirmado por teste de amplificação de ácidos nucleicos do genoma vírico – *Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction* (RT-PCR) em amostra de secreções oro/nasofaríngeas (7).

A imunidade adaptativa anti-SARS-CoV-2, refletida na presença de anticorpos neutralizantes específicos do *receptor-binding domain* (RBD) da proteína coronal do SARS-CoV-2 (*spike*) (8) e, em contexto investigacional, pela ativação antigénica de linfócitos T específicos, conferirá, provavelmente, imunoproteção sustentada, ainda que parcial, nos casos de reinfeção (9) (10). A imunogenicidade dos determinantes antigénicos da proteína coronal *spike*, principalmente do RBD que se liga à enzima de conversão da angiotensina 2 (ECA2) presente nas células epiteliais respiratórias, está na origem da síntese de anticorpos IgG neutralizantes RBD-específicos e da ativação linfocitária específica para SARS-CoV-2 (11).

A resposta humoral contra o SARS-CoV-2 segue um padrão clássico mas com ligeiras particularidades, sendo caracterizada pelo rápido aumento de anticorpos específicos IgM (pico em duas a cinco semanas), seguida de uma queda abrupta (em três a sete semanas), até se tornar indetetável; este aumento da IgM é acompanhado pela subida gradual das IgG, cujo pico ocorre entre a terceira e sétima semanas após a infecção, seguido de um planalto (*plateau*) ou decréscimo com velocidade muito variável interindividual (10), estando documentada atividade

neutralizante detetável pelo menos por três meses (12), mantendo-se, nos seis meses subsequentes (13).

O sexo masculino apresenta títulos de anticorpos superiores ao feminino (3) e os títulos de anticorpos anti-S e anti-RBD demonstraram boa correlação com a atividade neutralizante (10) (14) e, na maioria dos casos confirmados, verificando-se seroconversão IgG-específica em mais de 90% das infecções primárias, incluindo em doentes sob terapêutica imunossupressora ou antiretroviral (9) (13). Apesar disso, os dados disponíveis revelam títulos de anticorpos mais baixos em indivíduos assintomáticos ou com doença ligeira (9) (10) pelo que, tendo em conta que 10 a 20% dos infetados com SARS-CoV-2 poderão não ter anticorpos detetáveis (16) e os dados existentes sobre a eficácia da imunidade contra a COVID são ainda limitados (17), estes valores referenciais da imunidade humoral deverão continuar a ser interpretados cautelosamente, não havendo evidência que suporte a sua garantia enquanto “passaporte imunológico” na evicção do contágio e das formas graves da doença (18). O *gold standard* para a deteção de anticorpos é o método de ELISA, com 94,7% de especificidade e 98% de sensibilidade para os anticorpos anti-S (3).

De acordo com o Centro de Controlo e Prevenção de Doenças dos Estado Unidos da América (*Centers for Disease Control and Prevention – USA*) a obtenção de um RT-PCR positivo nos noventa dias após a infeção representa, provavelmente, uma persistente excreção de remanescentes víricos inviáveis, não representando uma verdadeira reinfeção ou infeção crónica (19). Poderão, ainda, confundir-se reinfeções com estados de *long-COVID*, em que a positividade no RT-PCR resulta de ciclos de amplificação do RNA muito repetidos (superiores a trinta), na ausência de alterações laboratoriais ou dados compatíveis no rastreio epidemiológico (20). No entanto, à semelhança de outros coronavírus (21), apesar de rara (17), tem sido reportada a reinfeção pelo SARS-CoV-2, sendo necessária a demonstração das diferentes assinaturas nucleotídicas, por sequenciação genética, entre as duas variantes ou sub-variantes víricas (22), confirmação essa frequentemente dificultada pela inacessibilidade às amostras colhidas nas fases iniciais da pandemia.

Este trabalho tem por objetivo a avaliação da resposta humoral natural após a infeção SARS-CoV-2/COVID-19 e obtenção de RT-PCR/SARS-CoV-2 negativo nos profissionais de saúde de um hospital central, ao longo de seis meses de observação.

MÉTODOS

Trata-se de um estudo longitudinal prospetivo, realizado entre março e dezembro de 2020, que envolveu todos os trabalhadores com RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 de um Centro Hospitalar Universitário. Foram inicialmente avaliados em exame de aptidão para regresso ao trabalho, maioritariamente de modo presencial, o qual incluiu o registo de sintomas e a avaliação da gravidade e duração do quadro agudo. Foram informados do projeto de avaliação sequencial dos títulos séricos de anticorpo IgG anti-*Spike* SARS-CoV-2 (IgG/anti-S), com apresentação do protocolo, metodologia e objetivos do estudo, tendo sido assinado o respetivo consentimento informado de participação.

A gravidade da infecção SARS-CoV-2 foi classificada em cinco níveis, de acordo com os seguintes critérios: *assintomática*, *ligeira* quando não interferia com as atividades da vida diária; *moderada* quando afetava as atividades diárias, mas sem necessidade de internamento hospitalar; *grave*, quando justificava internamento hospitalar e *muito grave*, por necessidade de escalar para cuidados intensivos (UCI). A população foi distribuída em dois grupos para comparação das concentrações séricas de anticorpos: idade igual ou superior e inferior a 50 anos (após avaliação por faixas etárias com dez anos de intervalo e verificação de inexistência de diferença significativa nos grupos acima e abaixo desse ponto de corte). Foram comparadas as concentrações séricas de anticorpos em função do sexo e presença e gravidade dos sintomas agudos.

Na classificação dos serviços como de elevado risco de infecção SARS-CoV-2, foram consideradas as áreas adstritas a doentes COVID-19 e as áreas de exposição a doentes potencialmente infetados, nomeadamente os serviços de urgência, as áreas de internamento dedicadas a patologia respiratória infecciosa aguda e as áreas de UCI.

As serologias foram colhidas aos zero, três e seis meses após a cura da infecção, definida como obtenção de dois testes RT-PCR negativos consecutivos até 28 de abril de 2020 e, após essa data, um teste RT-PCR negativo (23). Procurou-se associação entre as diversas variáveis em estudo e os títulos de IgG/anti-S em cada momento. Análise descritiva e inferencial realizada com recurso à versão 25 do SPSS®.

O projeto obteve aprovação da Comissão de Ética e do Departamento de Proteção de Dados da instituição onde foi realizado, sendo autorizada a publicação dos dados sob a forma de artigo científico.

Critérios de inclusão e exclusão

Foram elegíveis para integrar o projeto todos os trabalhadores que contraíram infecção por SARS-CoV-2 e que exerceram funções no Centro Hospitalar Universitário (CHU), no período de março a maio de 2020, independentemente da modalidade de contrato. Incluíram-se também colaboradores externos, habitualmente não observados na Medicina do Trabalho do CHU, nomeadamente os prestadores de serviço a título individual e/ou pertencentes a outras empresas, laborando habitualmente no CHU. Atendendo a estes critérios, foram incluídos 193 casos de infecção SARS-CoV-2 confirmada por RT-PCR num agregado laboral de 4200 profissionais do CHU.

Variáveis

Foram avaliadas variáveis demográficas (sexo e idade), dados laborais (categoria profissional e risco do local de trabalho face à probabilidade de infecção SARS-CoV-2/COVID-19) e dados clínicos relativos à infecção por SARS-CoV-2/COVID-19 (presença de sintomas, duração do isolamento, duração e gravidade da doença aguda).

Serologia anti SARS-CoV-2

A concentração sérica dos anticorpos IgG/anti-S foi medida por um método de imunoenensaio por quimioluminescência em amostras de soro humano utilizando o sistema MAGLUMI™ 2019-nCoV IgG (CLIA) incorporando um analisador automático MAGLUMI series. Trata-se de um método indireto, onde a amostra diluída é misturada com o tampão e microesferas impregnadas em antígeno recombinante de SARS-CoV-2, a incubar, formando imunocomplexos, que são precipitados em campo magnético; o sobrenadante é então retirado e submetido a um ciclo de lavagem; adiciona-se ABEI (*N*-(4-aminobutyl)-*N*-ethylisoluminol) marcado com anticorpo anti-IgG e incuba-se para formação dos imunocomplexos, precipitados, de seguida, em campo magnético; decantado o sobrenadante, é realizado outro ciclo de lavagem; adiciona-se o *starter* 1+2 para iniciar uma reação de quimioluminescência; o sinal luminoso é medido por fotómetro, em unidades relativas de luz, sendo este valor proporcional à concentração de IgG/anti-S. Interpretação dos resultados: *não reativo*, se resultado inferior a 1,0 AU/mL; *reativo* se resultado $\geq 1,0$ AU/mL (sensibilidade: 91,2%; especificidade: 97,3%; combinado com IgM: 96%) (24). Todas as amostras serológicas foram conservadas congeladas, no laboratório de Microbiologia, a destruir dois anos após o término do estudo.

RESULTADOS

Durante a *primeira vaga* da pandemia SARS-CoV-2, entre março e maio de 2020, o CHU registou 193 casos de infeção por SARS-CoV-2/COVID-19 (confirmadas por RT-PCR) nos seus profissionais, o correspondente a 4,6% do agregado laboral. 76% dos trabalhadores infetados eram do sexo feminino.

Relativamente à distribuição etária, a idade média (\bar{x}) global foi de $39,9 \pm 12$ [19-68] *versus* (vs.) $44,5 \pm 11,7$ [18-70] anos no agregado laboral. No sexo masculino, $\bar{x} = 41,1 \pm 13$ [23-68] vs. $44,6 \pm 12,1$ [20-70] anos do agregado total masculino e no sexo feminino $39,6 \pm 11,7$ [19-65] vs. $43,6 \pm 11,6$ [19-70] anos do agregado total feminino.

Quanto à categoria profissional, os trabalhadores que prestaram cuidados diretos foram os mais afetados, nomeadamente os assistentes operacionais (23,8%), enfermeiros (48,7%) e médicos (20,2%), representando, em conjunto, 92,8% dos infetados, informação reforçada pelo facto de 94% exercerem funções em serviços de elevado risco. A duração média dos sintomas foi de $12 \pm 8,9$ dias e o tempo médio de isolamento de $32,2 \pm 10,6$ [11-66] dias, sendo mais prolongado quanto maior a gravidade clínica ($p=0,002$). A maioria das situações foi gerida em regime de ambulatório (internamento domiciliário), sendo reportada infeção assintomática em 7,3% dos casos; sintomas ligeiros em 55,4%, com duração $\bar{x} = 11,1 \pm 7,5$ dias; moderados em 30,6%, com duração $\bar{x} = 14,7 \pm 8,9$ dias; graves em 5,7% e muito graves em 1,0%, com duração $\bar{x} = 20,4 \pm 10,1$ dias.

Cerca de 8,3% da população trabalhadora infetada contactada declinou participar no estudo serológico, mas consentiu na avaliação de sintomas, tendo-se incluído 177 profissionais e obtido 445 amostras serológicas.

A tabela 1 resume a informação relativa aos soros obtidos em cada uma das determinações, bem como às características da amostra da qual foram obtidos. Em t_1 obteve-se adesão de 93,8% da população, em t_2 de 94,5% e em t_3 de 63,3%.

As figuras 1 e 2 representam graficamente, respetivamente, as amostras serológicas obtidas e a mediana em cada momento, observando-se uma tendência decrescente ao longo do estudo. Os trabalhadores com cinquenta ou mais anos apresentaram títulos de IgG/anti-S mais elevados nas três avaliações ($p < 0,001$). Na primeira os casos de COVID-19 grave/muito grave apresentaram títulos superiores aos casos ligeiros/moderados ($p = 0,026$). Não se encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os sexos, entre a presença *versus* ausência de sintomas e os diferentes tempos de duração de doença aguda. Os resultados encontram-se resumidos na tabela 2. Comparando a gravidade da doença, considerando os grupos *ligeira/moderada* e *grave/muito grave*, a idade mais avançada foi associada a doença mais grave ($p = 0,002$). Não foi encontrada associação entre a gravidade da doença e o sexo ($p = 0,308$).

DISCUSSÃO

A infeção no CHU estudado afetou um homem por cada três mulheres, mantendo aproximadamente a proporção existente no agregado laboral do CHU. Assim, conclui-se que, contrariamente à maior incidência descrita no sexo masculino (3), a infeção atingiu igualmente ambos os sexos. Apesar dos resultados de Brodin apontarem maior gravidade no sexo masculino (25), na nossa população não foi encontrada diferença significativa da gravidade da doença entre os sexos.

A idade média (\bar{x}) dos trabalhadores infetados foi de cerca de 40 anos, inferior à idade média do agregado laboral hospitalar, coincidente com O'Malley et al (15), mas inferior aos resultados habitualmente publicados (7). Dado que a idade foi o fator de risco mais associado à progressão para doença grave (26) e que os prestadores de cuidados mais próximos estariam presumivelmente expostos a cargas virais mais elevadas e/ou mais repetidas (27), os trabalhadores mais velhos viram as suas tarefas condicionadas pelo Médico do Trabalho, já que foi assumida como política institucional, para sua proteção, o afastamento dos locais de maior risco de exposição. Confirmando esta presunção de risco, e relativamente à categoria profissional, os enfermeiros, os assistentes operacionais e os médicos foram os profissionais mais afetados representando, em conjunto, 92,8% do total de infetados, concordante com a bibliografia consultada (27). As medidas organizacionais e a utilização sistemática dos equipamentos de proteção individual terão contribuído, provavelmente, para a mitigação do risco de contágio intra-hospitalar, não obstante alguma hesitação inicial na sua implementação. Neste sentido, encontrou-se uma incidência apenas ligeiramente superior à da população geral (4,2 versus 3,5%, na área metropolitana do Porto), apesar de neste grupo profissional, confluir um risco acrescido de infeção e, presumivelmente, também de doença mais grave, por exposição a cargas virais mais intensas e repetidas (24) (27). A incidência foi, inclusivamente, inferior à de outros estudos realizados em trabalhadores hospitalares (4,2 versus 10% (3)).

Tal como na população geral, a maioria dos casos de infeção por SARS-CoV-2 foi gerida em regime de ambulatório, por se tratar de casos de gravidade ligeira a moderada, restando um pequeno grupo classificado como assintomáticos (concordante com os valores reportados na bibliografia (5)) e outro como tendo doença grave/crítica (aparentemente superior ao da

população geral (27) (28) (29) (30)). Os dados reportados pelo *European Centre for Disease Prevention and Control* (29) permitiram calcular, em Portugal, uma taxa global de internamento por COVID-19 de 1,2%, dos quais 15% com necessidade de transferência para UCI (31), comparando com os 7,3% e 14,4%, respetivamente, observados na população do CHU. Esta diferença poderá ser explicada pela maior intensidade da exposição ao vírus (27) e/ou por uma maior atenção aos sinais de gravidade da doença. A estimativa inicial da letalidade por COVID-19 em Portugal foi de 3,3% (32), corrigida para cerca de 1,6%, no decurso da pandemia até ao final de 2021 (33), em comparação, não foram registados óbitos no CHU.

Procurou-se associação entre os títulos de IgG/anti-S em cada momento (T_1 , T_2 , T_3) e as diversas variáveis em estudo. Mais de um quarto das amostras foram negativas na primeira avaliação, superior ao reportado por Figueiredo-Campos *et al* um mês após os sintomas (3), contudo limitada pelo tamanho da amostra. A proporção de negativos aumentou consideravelmente de seguida, obtendo-se, aos quatro meses, 50% de negativos e, aos oito meses, 72%, aproximando-se dos resultados de um estudo realizado em Singapura, que reporta anticorpos positivos em apenas 29% aos 6 meses (34). O tempo de doença aumentou em concordância com a gravidade do quadro agudo ($p=0,002$) e a clínica mais grave condicionou maior resposta humoral inicialmente, mas, contudo, sem diferença significativa aos três-seis meses.

Long *et al* e a revisão de Post *et al* apresentam maiores títulos de anticorpos nos indivíduos sintomáticos face aos assintomáticos, no entanto, na nossa população não foi encontrada diferença significativa (10) (35). Concordante com a bibliografia, a doença mais grave condicionou períodos de isolamento mais longos e afetou principalmente trabalhadores mais velhos, apresentando os mais novos títulos de IgG/anti-S mais baixos ao longo do tempo (25) (26).

Estas diferenças poderão ser explicadas pelo facto de os profissionais hospitalares estudados serem uma população mais jovem, ativa, maioritariamente saudável e sem comorbilidades relevantes, o que terá contribuído para um curso clínico de menor gravidade, quando comparado com as populações da bibliografia consultada, onde a existência de comorbilidades e idade avançada foram os maiores preditores de doença grave (26).

O estudo desenvolveu-se com medição de serologias a uma população ao longo de nove meses, em três momentos distintos. No entanto, alguns participantes aderiram tardiamente e outros abandonaram (*drop-off*) o seguimento, mas, dada a ausência de diferenças significativas entre as variáveis demográficas de cada grupo ($p>0,05$) e o pequeno número de participantes adicionados/retirados, haverá uma influência negligenciável na representatividade das amostras. O estudo previa inicialmente a colheita de quatro amostras para serologia, a última das quais aos doze meses. O surgimento da vacina contra a COVID e a consequente imunização dos trabalhadores, obviou a colheita da última serologia, dado não ser possível manter a coerência metodológica na determinação da resposta humoral seriada após infeção natural. Inicialmente, os trabalhadores recuperados de infeção por SARS-CoV-2 foram excluídos dos grupos prioritários de vacinação, contudo, dada a queda dos títulos de anticorpos observada neste ensaio, o elevado risco a que se mantêm expostos (36) e à possibilidade de reinfeção (19), os

autores defendem a vacinação dos profissionais recuperados, recomendando-se uma dose de vacina, a administrar seis meses após a infecção (37).

Existem ainda outros eventuais vieses/fatores confundidores, sem possibilidade de controle pelos investigadores, nomeadamente, a incerteza face ao intervalo temporal real entre a infecção e a colheita serológica. Apesar de o RT-PCR positivo garantir, com algum grau de certeza, a evolução cronológica da infecção em indivíduos sintomáticos e apresentando quadro típico de COVID, já nos indivíduos assintomáticos ou pauci-sintomáticos esta evolução temporal é menos precisa, já que a RT-PCR pode ser positiva nos noventa dias após a infecção (19); este viés possível pode ser corrigido, presumivelmente, pela identificação de cadeias de transmissão e, portanto, de uma ligação epidemiológica conhecida (surto no serviço ou contacto pessoal de alto risco). Apesar disso, não é possível excluir a ocorrência de casos de portador viral prolongado (*shedding* prolongado) (19), situação em que o intervalo temporal entre os sintomas e o resultado serológico pode ser superior ao descrito neste trabalho. Esta questão é ainda mais pertinente se atentarmos ao facto de estes trabalhadores, principalmente os assintomáticos, terem (individualmente) títulos mais baixos de IgG/anti-S (35), podendo alguns representar eventuais casos falsos positivos (38).

Relativamente ao método utilizado para o doseamento serológico, e apesar de existirem, atualmente, ensaios mais sensíveis e específicos, este estudo prospetivo foi iniciado numa fase ainda muito precoce da pandemia, em que, dos métodos disponíveis, este era, indiscutivelmente, o mais validado. Também, por coerência metodológica, uma vez iniciado o estudo, não era possível a adoção de um novo método sem comprometer os resultados comparativos.

CONCLUSÃO

A imunidade humoral parece ter um papel fundamental na defesa anti-SARS-CoV-2 imediata; contudo, os títulos de anticorpos tendem a cair rapidamente, como evidenciado na maioria dos estudos publicados, pelo que o papel dos anticorpos específicos, na sua interação com a imunidade celular, ainda não está totalmente estabelecido.

O nosso projeto evidenciou que trabalhadores infetados por SARS-CoV-2 (confirmado por RT-PCR positiva) apresentaram uma tendência decrescente dos títulos de IgG/anti-S ao longo das três determinações serológicas e, inclusivamente, em cerca de um quarto das amostras, valores abaixo do limiar de positividade logo na primeira avaliação, com subsequente aumento dos soros negativos até aos seis meses. Estes resultados sugerem uma rápida perda de títulos de anticorpos IgG/anti-S gerados por imunidade “*natural*” pós-aguda, não se conhecendo ainda o verdadeiro impacto deste decréscimo na eficácia da memória imunológica em situações de reinfeção ou, mais relevante ainda, por outras variantes do vírus SARS-CoV-2.

A Organização Mundial de Saúde admite a possibilidade de reinfeção três meses após a convalescença de COVID-19; assim, tendo em consideração os resultados obtidos, a incerteza quanto ao papel protetor conferido pela infecção natural e o maior risco de exposição ao agente, os profissionais de saúde em geral e os hospitalares em particular devem manter o cumprimento rigoroso das recomendações específicas e gerais para a prevenção do contágio e para o controle

da infeção intra-hospitalar, principalmente pela utilização do equipamento de proteção individual, independentemente de terem sido previamente infetados pelo vírus SARS-CoV-2.

AGRADECIMENTOS

Especial agradecimento ao Diretor do Serviço de Saúde Ocupacional do CHU e à equipa laboratorial de Microbiologia, bem como a toda a equipa de investigação e aos trabalhadores que participaram, permitindo a concretização deste projeto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - Direção-Geral da Saúde. Despacho nº1150/2021– Doenças de notificação obrigatória. Diário da República. 2021; 2ª série (19): 137–190.
- 2 - Administração Central do Sistema de Saúde IP. Circular Informativa nº 8/2020 – COVID-19: Doença Profissional nos Profissionais de Saúde. 2020: 1–2.
- 3 - Figueiredo-Campos P, Blankenhau B, Mota C, Gomes A, Serrano M, Ariotti S *et al.* Seroprevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients and healthy volunteers up to 6 months post disease onset. *European Journal of Immunology*. 2020; 50 (12): 2025–2040.
- 4 - Lee S, Meyler P, Mozel M, Tauh T, Merchant R. Asymptomatic carriage and transmission of SARS-CoV-2: What do we know? *Canadian Journal of Anesthesia*. 2020; 67: 1424–1430.
- 5 - Centro de Coordinación de Alertas y Emergencias Sanitarias. Información Clínica COVID-19 – Actualización, 28 de octubre 2021. 2021: 1–34.
- 6 - Parasher A. COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal*. 2021; 97: 312–320.
- 7 - Taleghani N, Taghipour F. Diagnosis of COVID-19 for controlling the pandemic: A review of the state-of-the-art. *Biosensors and Bioelectronics*. 2021; 174: 1–14.
- 8 - Vabret N, Britton G, Gruber C, Hegde S, Kim J, Kuksin M *et al.* Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*. 2020; 52: 910–941.
- 9 - Huang A, Garcia-Carreras B, Hitchings M, Yang B, Katzelnick L, Rattigan S *et al.* A systematic review of antibody mediated immunity to coronaviruses: kinetics, correlates of protection, and association with severity. *Nature Communications*. 2020; 11 (1): 1–16.
- 10 - Post N, Eddy D, Huntley C, Schalkwyk M, Shrotri M, Leeman D *et al.* Antibody response to SARS-CoV-2 infection in humans: A systematic review. *PLOS ONE*. 2020;15 (12) 1–27.
- 11 - Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nature Microbiology*. 2020;5 (4): 562–569.
- 12 - Isho B, Abe K, Zuo M, Jamal A, Rathod B, Wang J *et al.* Persistence of serum and saliva antibody responses to SARS-CoV-2 spike antigens in COVID-19 patients. *Science Immunology*. 2020; 5 (52): 1–21.
- 13 - Combadière B. Adaptive immunity against SARS-CoV-2. *Medicine/Sciences*. 2020; 36 (10): 908–913.
- 14 - Iyer A, Jones F, Nodoushani A, Kelly M, Becker M, Slater D *et al.* Persistence and decay of human antibody responses to the receptor binding domain of SARS-CoV-2 spike protein in COVID-19 patients. *Science Immunology*. 2020; 5 (52): 1–12.
- 15 - Dan J, Mateus J, Kato Y, Hastie K, Yu E, Faliti C *et al.* Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science*. 2021; 371 (6529): 1–13.
- 16 - Centre for Disease Prevention and Control. Science Brief: COVID-19 Vaccines and Vaccination. CDC online. September 2021.
- 17 - Abu-Raddad L, Chemaitelly H, Malek J, Ahmed A, Mohamoud Y, Younuskunju S *et al.* Assessment of the Risk of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)

Reinfection in an Intense Reexposure Setting. *Clinical Infectious Diseases*. 2021; 73 (7): e1830–1840.

18 - European Centre for Disease Prevention and Control. Reinfection with SARS-CoV-2: implementation of a surveillance case definition within the EU/EEA Key messages. ECDC online. 2021.

19 - Yahav D, Yelin D, Eckerle I, Eberhardt C, Wang J, Cao B *et al*. Definitions for coronavirus disease 2019 reinfection, relapse and PCR re-positivity. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021; 27: 315–318.

20 - Sun J, Xiao J, Sun R, Tang X, Liang C, Lin H *et al*. Prolonged persistence of SARS-CoV-2 RNA in body fluids. *Emerging Infectious Diseases*. 2020; 26 (8): 1834–1838.

21 - Callow K, Parry H, Sergeant M, Tyrrell D. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. *Epidemiology & Infection*. 1990; 105: 435–446.

22 - Wang J, Kaperak C, Sato T, Sakuraba A. COVID-19 reinfection: A rapid systematic review of case reports and case series. *Journal of Investigative Medicine*. 2021; 69: 1253–1255.

23 - Direção-Geral da Saúde. Norma nº 004/2020: Abordagem do Doente com Suspeita ou Confirmação de COVID-19. DGS. 2020: 1–28.

24 - Snibe Diagnostic. MAGLUMI IgG 2019-nCoV (CLIA) flyer. 2020.

25 - Brodin P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nature Medicine*. 2021; 27: 28–33.

26 - Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z *et al*. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet*. 2020; 395 (10229): 1054–1062.

27 - Gómez-Ochoa S, Franco O, Rojas L, Raguindin P, Roa-Díaz M, Wyssmann B *et al*. COVID-19 in Healthcare Workers: A Living Systematic Review and Meta-analysis of Prevalence, Risk Factors, Clinical Characteristics, and Outcomes. Oxford University Press. 2020: 1–43.

28 - National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Division of Viral Diseases. Underlying Medical Conditions Associated with Higher Risk for Severe COVID-19: Information for Healthcare Providers. CDC online. October 2021.

29 - European Centre for Disease Prevention and Control. Data on the daily number of new reported COVID-19 cases and deaths by EU/EEA country. ECDC Online. 2021;

30 - Instituto Nacional de Estatística. Censos 2011 – Resultados definitivos: Norte. INE online. 2012.

31 - Gautret P, Million M, Jarrot P, Camoin-Jau L, Colson P, Fenollar F *et al*. Natural history of COVID-19 and therapeutic options. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2020; 16 (12): 1159–1184.

32 - Vieira A, Ricoca V, Aguiar P, Abrantes A. Excesso de Mortalidade, em Portugal, em Tempos de COVID-19. Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa. 2020: 1–16.

33 - Direção-Geral da Saúde. Evolução do Covid-19 em Portugal. DGS online. Dezembro 2021.

34 - Chia W, Zhu F, Ong S, Young B, Fong S, le Bert N *et al*. Dynamics of SARS-CoV-2 neutralising antibody responses and duration of immunity: a longitudinal study. *The Lancet Microbe*. 2021; 2 (6): e240–249.

35 - Long Q, Tang X, Shi Q, Li Q, Deng H, Yuan J *et al*. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine*. 2020; 26 (8): 1200–1204.

36 - Vilas-Boas J, Brito T, Sampaio F, Barbosa C. Relação entre Idade e Imunidade para a COVID-19 em Profissionais de Saúde. *Revista Portuguesa de Saúde Ocupacional*. 2021; 12: 1–6.

37 - Direção-Geral da Saúde. Norma nº 021/2020, de 23 de dezembro, atualizada a 3 de novembro de 2021: Campanha de Vacinação contra a COVID-19 Vacina COMIRNATY®. DGS. 2020: 1–28.

38 - Esteve C, Catherine F, Chavanet P, Blot M, Piroth L. How should a positive PCR test result for COVID-19 in an asymptomatic individual be interpreted and managed? *Medicine et Maladies Infectieuses*. 2020; 50: 633–638.

Data de recepção: 2022/01/01

Data de aceitação: 2022/01/19

Data de publicação: 2022/01/22