



UNIVERSIDADE DO ESTADO DA BAHIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO *STRICTO SENSU* EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS (PPGFARMA)

AVALIAÇÃO DO USO DO PLASMA CONVALESCENTE EM
PACIENTES GRAVES DIAGNOSTICADOS COM COVID-19: UMA
REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE

GABRIEL COUTO ROCHA

Salvador - Ba

2021

**AVALIAÇÃO DO USO DO PLASMA CONVALESCENTE EM PACIENTES
GRAVES DIAGNOSTICADOS COM COVID-19: UMA REVISÃO
SISTEMÁTICA COM METANÁLISE**

GABRIEL COUTO ROCHA

Exame de Qualificação apresentado ao Programa Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas (PPGFARMA), da Universidade do Estado da Bahia (UNEB) como pré-requisito para obtenção de créditos parciais e Qualificação do trabalho de conclusão do Curso de Mestrado Acadêmico.

Orientador: Prof. Dr. Roberto Rodrigues Bandeira Tosta Maciel

Co-Orientador: Prof. Dr. Aquiles Assunção Camelier

Linha de Pesquisa: Avaliação de Fármacos, Biomarcadores e Produtos Naturais e Sintéticos (Linha 02).

Salvador - Ba

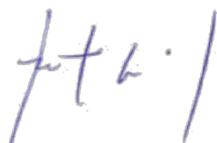
2021

FOLHA DE APROVAÇÃO

"AVALIAÇÃO DO USO DO PLASMA CONVALESCENTE EM PACIENTES GRAVES DIAGNOSTICADOS COM COVID-19: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA COM METANÁLISE"

GABRIEL COUTO ROCHA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto sensu* em Ciências Farmacêuticas – PPGFARMA, em 25 de outubro de 2021, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade do Estado da Bahia, conforme avaliação da Banca Examinadora:



Professor(a) Dr.(a) ROBERTO RODRIGUES BANDEIRA TOSTA MACIEL
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Fisioterapia
Universidade Cidade de São Paulo



Professor(a) Dr.(a) VALDIRENE LEAO CARNEIRO
Universidade do Estado da Bahia - UNEB
Doutorado em Imunologia
Universidade Federal da Bahia



Professor(a) Dr.(a) MARIA LUIZA CAIRES COMPER
Universidade Federal do Sul da Bahia - UFSB
Doutorado em Fisioterapia
Universidade Cidade de São Paulo

FICHA CATALOGRÁFICA
Sistema de Bibliotecas da UNEB

R672a

Rocha, Gabriel Couto

A avaliação do uso do plasma convalescente em pacientes graves diagnosticados com COVID-19: uma revisão sistemática com metanálise / Gabriel Couto Rocha. - Salvador, 2021.

76 fls.

Orientador(a): Prof Dr. Roberto Rodrigues Bandeira Tosta Maciel.

Coorientador(a): Prof. Dr. Aquiles Assunção Camelier.

Inclui Referências

Dissertação (Mestrado Acadêmico) - Universidade do Estado da Bahia. Departamento de Ciências da Vida. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - PPGFARMA, Campus I. 2021.

1.Covid-19. 2.Terapêutica. 3.SARS-Cov-2.

CDD: 615

Dedico este trabalho a Deus e a todos
que também estiveram comigo ao longo
desse trajeto.

Agradecimentos

Agradeço a Deus pelo dom da vida, pela infinita sabedoria e pela graça que me acompanha dia e noite.

A meus pais por serem minha base, e me darem forças nos dias mais difíceis.

A minha avó Ivanete por ser uma extensão do meu coração.

A minha família que sempre me apoia e sempre esteve presente nas minhas conquistas

A meu amor, Roger Alberto, por ser um porto seguro em momentos de tempestade;

A meus amigos queridos (Rodrigo, Vinícius, Alana, Brenda e Tainá) que sempre estiveram ao meu lado em diversos momentos.

A todos que de certa forma, me ajudaram e acompanharam até aqui, com orações ou palavras, meus sinceros, muito obrigado.

Sumário

1. Introdução	11
2. Justificativa	13
3. Objetivos	14
3.1 Objetivo Geral	14
3.2 Objetivo Específico	14
4. Fundamentação Teórica.....	15
4.1 COVID-19: Virulência	15
4.2. Patogênese	18
4.3 Manifestações Clínicas	20
4.4 Diagnóstico Laboratorial	22
4.5 Resposta Imune-antiviral	26
4.6 Terapia de Imunização Passiva.....	31
4.7 Coleta e Avaliação	33
4.8 Regulamentações do Procedimento	39
4.9 Atualizações sobre o método.....	43
5. Materiais e Métodos	46
5.1 Desenho do estudo	46
5.2 Buscas nas bases de dados.....	47
5.3 Estratégia de busca	47
5.4 Critérios de Elegibilidade do Estudo	49
5.5 Desfecho e Extração de Dados	49
5.6 Seleção de dados.....	50
5.7 Análise Estatística.....	51
5.8 Risco de Viés.....	51
6. Resultados	52
6.1 Seleção dos Estudos	52
6.2 Características dos estudos.....	55
7. Discussão.....	56
7.1 Mortalidade – Desfecho Primário	1
7.2 Cura/Diminuição dos sintomas – desfecho secundário	2
7.3 Tempo de internação pós-transfusão – desfecho secundário	4
8. Análise de Segurança e Efeitos Adversos	5
9. Principais Limitações dos Estudos.....	6

10. Considerações Finais	7
11. Cronograma.....	1
12. Referências.....	1

Lista de Abreviaturas

ACE-2	Enzima conversora de angiotensina 2
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
APC	Células apresentadoras de antígenos
COVID-19	Coronavírus 2019
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
DAMPs	Padrões moleculares associados a danos
IFN-1	Interferon-1
IFN-III	Interferon-3
IgA	Imunoglobulina A
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-6	Interleucina-6
IL-1 β	Interleucina-1 β
IP-10	<i>Interferon gamma-induced protein 10</i>
MCP-1	<i>Monocyte chemoattractant protein-1</i>
MERS	Síndrome Respiratória do Oriente Médio
MIP-1 α	Macrophage inflammatory protein-1 α
mAbs	Anticorpo monoclonal
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAMPs	Padrões moleculares associados a patógenos
PCR	Proteína C reativa
RER	Retículo endoplasmático rugoso
RNA	Ácido ribonucleico
RT-PCR	<i>reverse-transcriptase polymerase chain reaction</i>
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
TC	Tomografia Computadorizada
TCD4+	Límfocitos T auxiliar
TCD8+	Límfocito T citotóxico
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa

TMPRSS2	Serina protease transmembranar 2
TLR3	toll-like receptors 3
TLR7	toll-like receptors 7
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VLF	Partículas semelhantes a vírus

Lista de Figuras e Quadros

Lista de Figuras

Figura 1 - Novo coronavírus em corte transversal simples.....	20
Figura 2 – Ligação da Proteína S na superfície do vírus.....	21
Figura 3 – Estimativa dos níveis de biomarcadores durante a infecção do SARS-Cov-2.....	27
Figura 4 - Atividade imunológica inata em defesa antiviral.....	31
Figura 5 – Esquema do uso do plasma convalescente no COVID-19.....	35
Figura 6 – Mecanismo de competição entre o a proteína S e o anticorpo neutralizante.....	41
Figura 7 - Diagrama de fluxo da pesquisa nas bases de dados NMA COVID-19.....	56
Figura 8 - Diagrama de fluxo da pesquisa nas bases de dados indexadas.....	57
Figura 9 – Gráfico de viés dos estudos.....	62
Figura 10 – Gráfico de viés dos segundo cada autor.....	62
Figura 11 – Florest Plot do desfecho mortalidade.....	63
Figura 12 – Florest plot do desfecho cura/diminuição dos sintomas.....	64
Figura 13 – Florest plot do desfecho tempo de internação pós transfusão.....	67

Lista de Quadros

Quadro 1 – Efeitos adversos da transfusão do plasma convalescente.....	37
Quadro 2 – Recomendações da sobre elegibilidade dos doadores	43
Quadro 3 – Palavras-chave acrescentadas dos operadores booleanos.....	50
Quadro 5 - Dados extraídos dos estudos segundo as informações utilizadas na pesquisa.....	53
Quadro 6 – Características dos artigos selecionados.....	58
Quadro 7 – Cronograma de atividades ate defesa.....	70

Resumo

Objetivo: Avaliar a eficácia e segurança do uso do plasma convalescente, em pacientes internados diagnosticados com COVID-19 através da revisão de ensaios clínicos randomizados.

Materiais e Métodos: Trata-se de uma revisão sistemática e uma metanálise. Foram utilizadas as bases de dados EMBASE, MEDLINE, Cochrane Library e Science Direct, com as palavras-chave e sinônimos identificados nos Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), no *Medical Subject Headings* (MeSH) e Operadores Booleanos. As medidas de associação utilizadas foram *Odds Ratio* (ORs) ou Média e Desvio Padrão. A heterogeneidade estatística foi avaliada pelo Teste de Inconsistência I² e a qualidade dos estudos por meio do Sistema GRADE (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation).

Resultados: A pesquisa resultou em 8.179 artigos, destes, apenas 4 foram incluídos na seleção final. Os estudos foram extraídos e organizados em uma tabela com informações como autor, ano e país; tipo de amostra, características; desfecho; resultados. O OR para mortalidade foi de 0,79 (IC 95%: 0,54 – 1,17; p-valor = 0,24), para diminuição dos sintomas clínicos ou melhora clínica foi de 1,55 (IC 95%: 0,43- 5,56; p-valor = 0,50) e para tempo de internação pós transfusão/dias de randomização (diferença entre médias= -0,69, IC 95%, -1,72 – 0,33; p = 0,19) não existindo diferença clínica significativa entre os grupos (placebo x randomizados). Não houve eventos adversos clínicos significativos com relação ao uso do plasma convalescente e a mortalidade dos pacientes. Os resultados indicam um alto grau de heterogeneidade entre os estudos e a análise do gráfico do risco de viés sugere presença de risco de viés de publicação em mais de um autor.

Considerações finais: Os resultados da presente revisão sistemática e metanálise sugerem que o plasma convalescente não provoca efeitos negativos nos desfechos mortalidade, porém não garantem estabilidade durante o tempo de internação e não apresentam diferenças no tempo de internação nem na melhora dos sintomas clínicos. Desse modo, tornam-se necessários uma sistematização com mais estudos que tenham desfechos mais específicos e amostras e métodos mais nivelados, com o uso do plasma convalescente para o COVID-19.

Palavras-chave: COVID-19; plasma convalescente; SARS-CoV-2; segurança; eficácia.

Abstract

Objective: To evaluate the efficacy in 3 different outcomes of the effects of the use of convalescent plasma in hospitalized patients diagnosed with COVID-19 and the safety of this method through randomized clinical trials.

Materials and Methods: This is a systematic review and meta-analysis. EMBASE, MEDLINE, Cochrane Library and Science Direct databases were used, with the keywords and synonyms identified in the Health Sciences Descriptors (DeCS), Medical Subject Headings (MeSH) and Boolean Operators. The association measures used were Odds Ratio (ORs) or Mean and Standard Deviation. Statistical heterogeneity was assessed using the I² Inconsistency Test and the quality of studies using the GRADE System (Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation).

Results: The search resulted in 8,179 articles, of which only 4 were included in the final selection. The studies were extracted and organized into a table with information such as author, year and country; type of sample, characteristics; outcome; results. The OR for mortality was 0.79 (95% CI: 0.54 – 1.17; p-value = 0.24), for a decrease in clinical symptoms or clinical improvement was 1.55 (95% CI: 0.43 - 5.56; p-value = 0.50) and for length of stay after transfusion/days of randomization (difference between means = -0.69, 95% CI, -1.72 - 0.33; p = 0.19) with no clinically significant difference between the groups (placebo x randomized). There were no significant clinical adverse events regarding the use of convalescent plasma and patient mortality. The results indicate a high degree of heterogeneity between studies and the analysis of the risk of bias graph suggests the presence of risk of publication bias in more than one author.

Final considerations: The results of the present systematic review and improved meta-analysis show that convalescent plasma does not have negative effects on mortality outcomes, but does not guarantee stability during the length of stay and does not show differences in length of stay or improvement in clinical symptoms. Thus, it is necessary to systematize more studies that have more specific outcomes and more level methods, with the use of convalescent plasma for COVID-19.

Keywords: COVID-19; convalescent plasma; efficacy; security; SARS-CoV-2.

1. Introdução

O COVID-19, também conhecido como coronavírus, é o principal causador de uma doença infecciosa respiratória aguda grave, tendo o SARs-COV-2, como seu principal agente etiológico. Devido ao recente surto do vírus, a níveis globais, foi tido a China, como o principal sítio de desencadeamento da pandemia em março de 2020, afetando diversos países, tanto na área da saúde, quanto economicamente. (CHEN et al., 2020)

A principal forma de transmissão do vírus é por gotículas expelidas na tosse ou no espirro, podendo ser passado pelo ar ou em contato direto com material infectado e logo em seguida com regiões de mucosas (olho, nariz e boca). (HEGAZY et al., 2020) Os principais afetados pelo vírus são idosos, imunossuprimidos e pessoas que apresentam outras comorbidades crônicas, classificados como “grupo de risco”, devido ao fato de possuírem poucas condições de se recuperarem de forma orgânica do vírus. Posteriormente, foi declarado pela Organização Mundial da Saúde (OMS), a maioria das pessoas (cerca de 80%) se recupera da doença sem precisar de tratamento hospitalar e uma em cada seis pessoas infectadas por COVID-19, fica gravemente doente e desenvolve dificuldade de respirar, onde a maioria das infecções ocorre em pessoas em contato próximo com pacientes, sobretudo, os profissionais de saúde e que na maioria dos casos de mortalidade, ocorreram em idades superiores a 65 anos. (HEGAZY et al., 2020 e PESSOA et al., 2020)

Durante o ano de 2020, devido ao fato das pesquisas clínicas, necessitarem de tempo e resultado seguro para a realização de uma vacina que seja eficaz no uso em massa, se deu início a uma corrida contra o tempo, onde os profissionais de saúde e pesquisadores da área, apontaram diversos medicamentos iniciais, que poderiam ajudar na recuperação clínica de pacientes graves diagnosticados com o COVID-19. Foi através dessas pesquisas, que se encontraram formas de controlar o avanço do vírus em pacientes em estado crítico, principalmente tratando os sintomas clínicos. (CASADEVALL et al., 2020)

Ao decorrer de toda essa informação, foi trazido à tona o uso do plasma convalescente. Um tratamento que possui mais de um século em que começou a ser utilizado, quando ocorreram surtos de doenças infecciosas e depois entrou em desuso ao constatar que os tratamentos farmacológicos mais eficazes e vacinas, poderiam ser produzidos em larga escala e possuíam eficiência semelhante. (CASADEVALL E RUBIN, 2020)

O plasma convalescente é retirado de pessoas saudáveis ou em processo de recuperação de uma infecção, sendo a parte líquida do sangue coletado e posteriormente processado, para total reaproveitamento da parte necessária (anticorpos), sua administração

passiva é a forma que pode fornecer imunidade imediata a pessoas susceptíveis. No contexto da epidemia Covid-19, trata-se de um produto que pode estar rapidamente acessível, à medida em que exista um número suficiente de pessoas que se recuperaram da doença e que possam doar o plasma contendo imunoglobulinas que reajam contra o vírus SARS-CoV-2. (CASADEVALL, 2020)

Segundo Pessoa et al. (2020), experiências no passado com surtos, como SARS-CoV-1, mostraram que o soro convalescente pode neutralizar o vírus circulante antes de infectar a célula-alvo, após o rompimento da célula infectada e liberação de novas partículas virais. Para o vírus SARS-CoV-2, a forma de terapia passiva com anticorpos envolve o mesmo processo de neutralização da partícula viral, sendo atualmente testada e pesquisada por algumas instituições de pesquisa em saúde. Aqui neste trabalho, discutimos prováveis benefícios da administração de plasma convalescente a pacientes com COVID-19 e apresentamos a evidências dessa estratégia na pandemia atual.

2. Justificativa

Mesmo com a afirmação de que existem vacinas com a possibilidade de até 95 % de eficácia na imunização (PFIZER - BioNTech, OMS, 2021) o plano de vacinação ainda é lento no Brasil, mesmo após 10 meses de início da vacinação, o Brasil conta com apenas 46.9% da população completamente imunizada (MATHIEU, E. *et al.*,2021). Desta forma, se torna necessário trabalhar com um plano auxiliar e de manutenção, com eficácia comprovada para o SARS-CoV-2, sendo os anticorpos presentes no plasma convalescente humano, um potencial tratamento para Covid-19, já que os anticorpos (imunoglobulinas) são proteínas que poderiam ajudar a combater a infecção. (ANVISA, NT 20/2020; OMS, 2021)

A terapia passiva pela administração de anticorpos presentes no plasma convalescente tem um longo histórico de utilização, além de ter sido testada mais recentemente na Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS 1) em 2003 e na Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2012, entre outras infecções como epidemias causadas por Influenza H1N1 e por Ebola (DUAN *et al.*, 2020). No contexto da epidemia Covid-19, diversos estudos científicos têm surgido sobre o uso do plasma convalescente, sugerindo resultados promissores. De acordo com alguns estudos não randomizados (DUAN *et al.*, 2020; SHEN *et al.*, 2020; SALAZAR *et al.*,2020), as transfusões de plasma são geralmente seguras e bem toleradas pela maioria dos pacientes, seguindo os requisitos técnicos e sanitários para produção e uso dos hemocomponentes. (ANVISA, NT 20/2020)

Até que vacinas estejam disponíveis para todos, o plasma convalescente se mostra uma terapia em potencial para pacientes graves internados com COVID-19. O plasma possui fácil acesso e pode ser preparado e feito rapidamente, estando disponível por bancos de sangue e hospitais específicos, necessitando apenas de doadores em potencial, que serão exemplificados ao decorrer do trabalho (PIECHOTTA,2020). No entanto, ressalta-se que sua segurança e eficácia não são bem caracterizados por limitações em pesquisas e existe um custo associado à busca de pacientes convalescentes. Nesse período, uma infinidade de ensaios clínicos investigando a segurança e eficácia do plasma convalescente ou hiperimmune imunoglobulinas foram anunciadas. Portanto, é necessário que haja uma análise completa e cuidadosa, além de uma extensa revisão da literatura disponível.

3. Objetivos

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a eficácia e segurança do uso do plasma convalescente, em pacientes internados diagnosticados com COVID-19 através da revisão de ensaios clínicos randomizados.

3.2 Objetivo Específico

Compreender a fisiopatologia que envolve a COVID-19.

Analisar o impacto do uso do plasma convalescente no tempo de internação, redução dos sintomas clínicos e mortalidade de indivíduos com COVID-19.

Avaliar a segurança da imunoterapia através da imunização passiva em ensaios clínicos com uso do plasma convalescente.

Analisar os fatores que promovem a heterogeneidade dos resultados apresentados.

4. Fundamentação Teórica

4.1 COVID-19: Virulência

O coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença infecciosa epidêmica zoonótica (que pode ser transmitidas entre animais e humanos), gerando sintomas clínicos como síndrome respiratória aguda grave. No período de 2002 a 2003, na província de Guangdong, na China, foi datado o primeiro surto de coronavírus que levou a 774 mortes, em aproximadamente 8.098 casos confirmados, sendo considerado a doença humana mais grave causada por qualquer coronavírus. O surto teve início num hotel em Hong Kong, resultando na perda de quase US \$ 40 bilhões dólares em atividade econômica, já que o vírus quase paralisou muitas atividades em países como Cingapura, Tailândia e China e Canadá, para vários meses (FEHR et al., 2015).

Em dezembro de 2019, foi relatado na cidade de Wuhan na China, o início de um novo surto, que rapidamente se espalhou e atingiu gravemente países como Itália, Estados Unidos e Espanha. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMSb, 2020) Em 7 de julho de 2020 já se encontrava no mais de 11,5 milhões de casos no mundo e 535.000 mortes. Foi identificado que o período de incubação do vírus SARS-CoV- 2 era de 5 dias em 97,5% dos casos, um período de incubação relativamente curto, podendo estender-se a 14 dias em uma pequena parte do infectados; mas pode ocorrer um longo período de apresentação clínica, chegando a muitas semanas para terminar com cura ou mesmo morte (PIECHOTTA et al., 2020).

Os casos também desenvolvem dispneia e dificuldades respiratórias em cerca de uma semana desde o início dos sintomas da doença. A pneumonia ocorre em pacientes com dificuldade respiratória aguda, em alguns casos. As complicações dos casos são relatadas na manifestação de sintomas como febre, tosse seca, fadiga, perda de olfato e paladar e os menos relatados ou de forma dispersa foram, falta de ar, dor de garganta, dor de cabeça, mialgia ou artralgia, calafrios, náuseas ou vômitos. OMSa (2020) HEGAZY et al., (2020); PIECHOTTA et al., (2020)

Estima-se que, segundo a OMS (OMSa,2020), 80% dos casos cursaram leves ou assintomático da infecção e cerca de 5% dos casos foram admitidos na UTI com síndrome do desconforto respiratório agudo (ARDS), apontando como maior risco de mortalidade pessoas

com mais de 80 anos ou portadores de comorbidades como obesidade, doença cardiovascular, hipertensão, diabetes, doenças respiratórias, câncer e imunossuprimidos. (OMSa,2020).

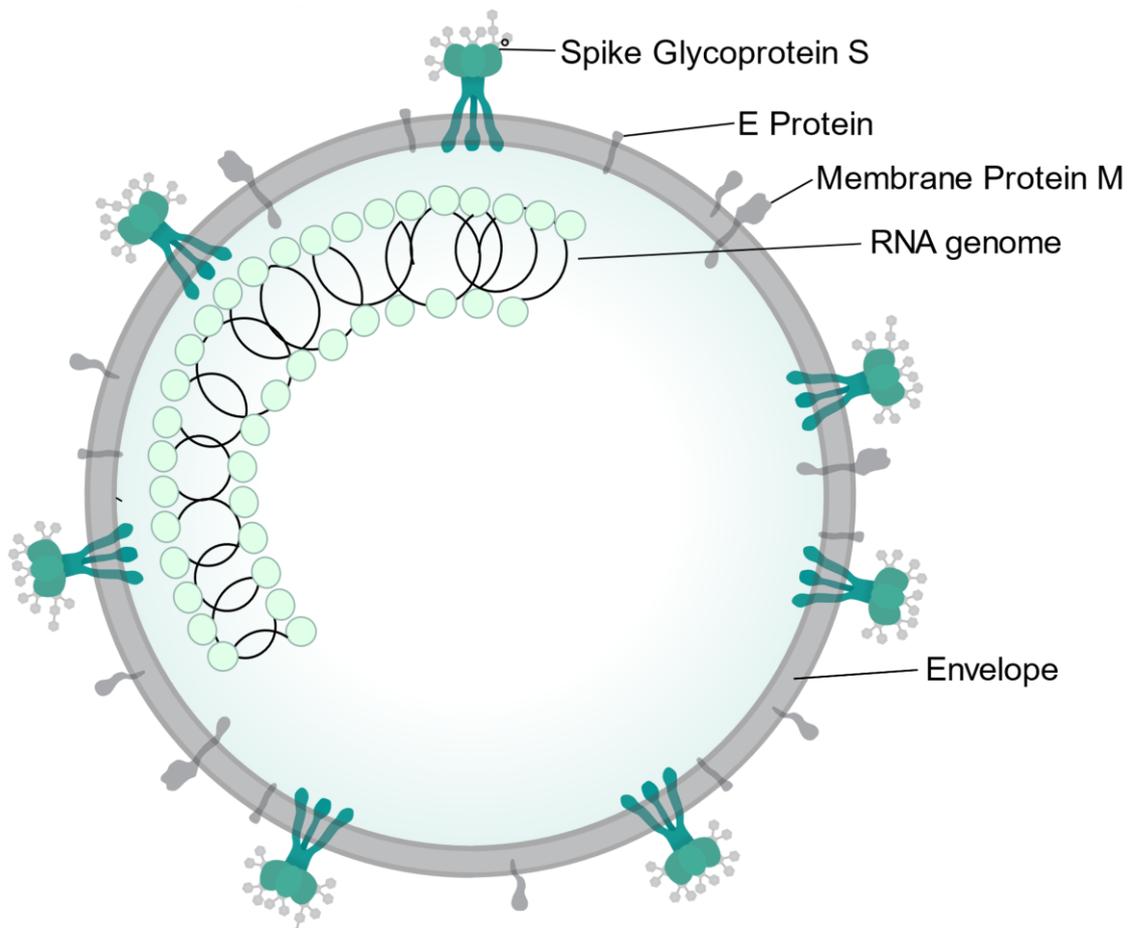
A forma de infecção pode ser realizada de muitas formas, seja por transporte aéreo de gotículas de espirro ou tosse, que podem alcançar distâncias de até 1,5 metros, chegando até as vias aéreas ou mucosas do hospedeiro (nariz, boca ou conjuntiva ocular), por exposição direta em contato com pacientes, através do toque ou compartilhamentos de materiais pessoais e por transmissão indireta, onde o hospedeiro toca ou manuseia objetos contaminados e posteriormente leva as mãos aos olhos ou a boca (XU,2020).

Hegazy, Piechotta e Xu (2020), relata também que o vírus é capaz de induzir uma reação imunológica excessiva no hospedeiro, porém diminui o número de células T CD4 + e CD8 + no sangue periférico em grande parte dos casos. Os relatórios iniciais do COVID-19 também mostraram que as pessoas gravemente doentes exibiam um estado hiper coagulável e inflamação endotelial, que sugeriam uma alta demanda de eventos tromboembólicos observados nesta população e os relatórios sugeriam que a causa rápida da deterioração da função pulmonar do paciente estava ligado na diminuição na atividade da enzima conversora de angiotensina humana 2 (ACE2) sendo uma proteína que funciona como o receptor que facilita a entrada de SARS-CoV-2 na célula hospedeira, em geral, ele se propaga nas mesmas células, semelhante ao necessário para o crescimento do SARS-CoV e a ACE2, é mais abundante nas células alveolares do tipo II nos pulmões, fazendo com que o vírus tenha preferências por regiões como mucosas das vias aéreas (nariz e garganta). (HEGAZY et al.,2020)

Dentro das características do novo coronavírus 2019, podemos citar determinadas especificações, como pertencimento a uma nova cepa da família coronaviridae, distinguindo-se de outro SARS-CoV (Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus), que foi responsável pelo surto em 2002 (HEGAZY et al., 2020) O vírus é envelopado composto por uma fita simples de RNA sentido positivo (semelhante ao RNAm do hospedeiro), aparecendo na micrografia eletrônica com estrutura que se assemelha a uma coroa, assim nomeado de “corona”, na língua espanhola. HEGAZY et al., (2020) e PIECHOTTA et al., (2020)

A entrada do vírus na célula é feita por essas projeções ao redor, chamadas de proteínas S (ou proteínas Spike) e alguns antígenos virais específicos que são facilmente removidos pela enzima protease. São projeções em formas de ponta e compostas basicamente por glicoproteínas de alto peso molecular, elas se apresentam como a sequência de genoma mais variável do vírus, sendo dessa forma que ocorre a ligação com o receptor da célula hospedeira, como exemplo na figura 1 (HEGAZY et al., 2020).

Figura 1 - Novo coronavírus em corte transversal simples com detalhes da superfície viral até parte interna. envelope viral.
RNA Genome – código genético do vírus



Fonte: Wikimagens, 2020.

Por ser um vírus envelopado, possui uma maior chance de sobrevivência ao ar livre e também nas superfícies, podendo ser passivo de infecção por vários dias em diferentes ambientes de contato. Porém, pode ser afetado por alterações ambientais como calor e umidade, ambientes secos e com altas temperaturas tendem a diminuir a sobrevivência do vírus, levantando a questão de que no verão, com o aumento da temperatura ambiente, as chances de infecções podem diminuir. (HEGAZY et al., 2020)

Acerca da origem do vírus, o coronavírus, está incluso em distintos grupos; cada um tem um hospedeiro animal, sugerindo que sua origem seja de fonte animal. Fehr (2015) e

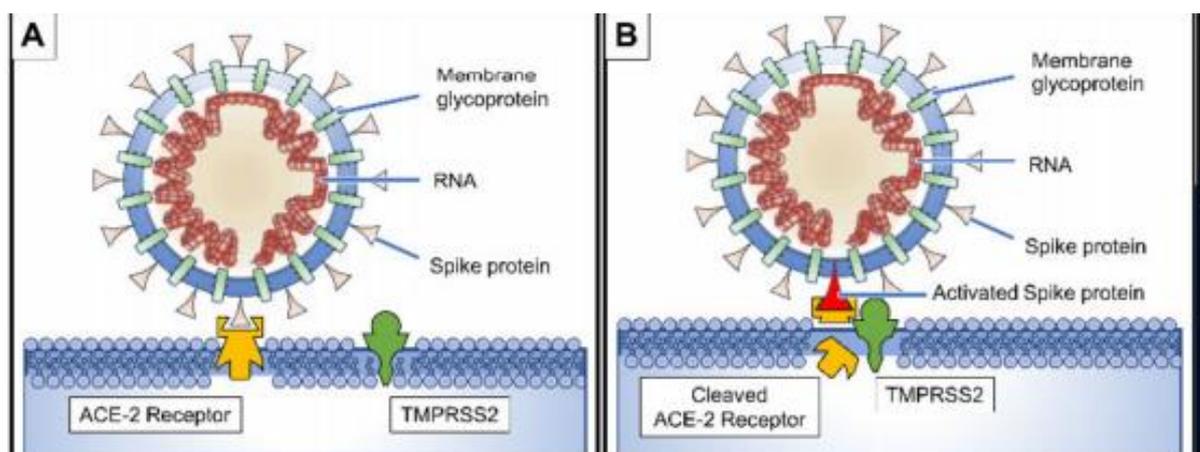
Hegazy (2020) afirmam que o vírus tem a mesma homologia com o isolado de gatos civetas e que também é idêntico ao SARS-CoV que está intimamente relacionado a outros coronavírus de morcegos, além de evidências adicionais que descobriram, que o mesmo receptor do vírus nos seres humanos (ACE2) se apresentaram em morcegos, demonstrando mais uma vez que o vírus tem origem zoonótica, isso resulta em ocasionais surtos e mais frequentemente infecções sem aparente sintomas. Segundo os autores, é bastante provável, que esse é um vírus intimamente relacionado a circulação de animais úmidos nos mercados por vários anos antes e que uma série de fatores facilitaram sua disseminação para a população humana. (FEHR et al., 2015, HEGAZY et al. e XU et al., 2020).

Um desses fatores é que, diferente do SARS-CoV, o SARS-CoV-2, apresenta erro em polimerases de RNA dependentes, esses erros, permitem mutação e recombinação na sua fita simples de RNA, isso afeta diretamente as glicoproteínas que estão nos picos, afetando o controle do vírus e facilitando a sua entrada nas células hospedeiras, tornando uma ameaça constante ao ser humano. (HEGAZY et al., 2020)

4.2. Patogênese

Como antes citado, o vírus atua de forma preferencial nas células epiteliais do trato respiratório superior, devido a afinidade com o receptor de angiotensina enzima convertase 2 (ACE2). A ligação inicial do vírus à célula hospedeira é iniciada por interações entre a proteína S e seu receptor (ACE2 – no caso do SARS-CoV-2) (figura 2A), após a ligação é formado um complexo, que é clivado por uma protease transmembrana tipo II (TMPRSS) que ativa a proteína S e permite a ligação, como na figura 2B. Essa interação vai ser um forte fator para o coronavírus infectar uma espécie hospedeira e também governa o tropismo de tecido

Figura 2 - (A) Ligação da proteína S (Spike Protein) na superfície do vírus com o receptor da enzima conversora da angiotensina II (ACE-2) na superfície da célula alvo. **(B)** Processo que protease transmembranar tipo II (TMPRSS2) liga-se e cliva o receptor ACE-2. No processo, a proteína spike é ativada.



do vírus.

Fonte: Rabi et al.,2020.

Após a ligação ao receptor, o vírus deve em seguida obter acesso ao citosol da célula hospedeira, através da fusão das membranas viral e celular, livre do capsídeo e liberando o genoma viral no interior da célula. As partículas então chegam ao retículo plasmático rugoso (RER) da célula hospedeira, que será utilizado para formação de vesículas do vírus, sendo ali onde ocorrerá sua replicação e transcrição (FEHR et al., 2015, HEGAZY et al.,2020).

A próxima etapa no ciclo de vida do coronavírus é a tradução do gene replicase do RNA genômico do vírus, essa replicação ocorrerá dentro da célula por mais ou menos uma semana. Neste período, o tropismo viral inicialmente localizado nas células das trato respiratório superior, se torna responsável pela propagação do vírus e alta infectividade dos pacientes, alcançando sistema respiratório e corrente sanguínea.

A proteína M (figura 1.) é responsável por direcionar as interações proteína-proteína para a formação viral, mas ela sozinha não é o suficiente, que as partículas semelhantes a vírus (VLPs) não podem ser formados apenas pela expressão da proteína M. Assim, durante a expressão da proteína M e dos VLPs, são formadas proteínas E, isso sugere que as duas proteínas (M e E) funcionem juntas na formação dos envelopes de coronavírus, porém enquanto a M é relativamente abundante, a proteína E se apresenta em poucas quantidades nas partículas virais. Sendo admissível que as interações da proteína M forneça o passo inicial para maturação do envelope viral. Após a montagem do envelope, as partículas virais são transportadas para a superfície celular em vesículas e liberadas por exocitose ou por lise celular (em ciclo lítico), ainda não se sabe se as partículas virais usam a via de transporte de cargas tradicional do complexo de Golgi ou se possuem um caminho criado exclusivo para sua saída (FOC,2010, FEHR et al., 2015).

Antes do surto de SARS-CoV, os coronavírus eram apenas considerados por causar infecções respiratórias leves e autolimitadas em humanos, causando 15-30% das infecções do trato respiratório a cada ano (FEHR et al., 2015). Sua atividade no pulmão, ocorre invadindo os pneumócitos do tipo II que carregam a enzima ACE2, se replicando e levando a destruição, na consequente perda na produção de surfactante que protege o pulmão de colapsar, sugerindo que essa destruição de pneumócitos, seja responsável pela síndrome respiratória aguda grave, pesquisas funcionais visando o bloqueio da proteína ACE2, que representa a rota do receptor para entrada do vírus no corpo humano, são altamente recomendadas (HEGAZY, 2020).

O mecanismo de destruição dessas células, induzidas pelo vírus, ainda não está claro, porém a destruição desses linfócitos pode criar uma resposta tempestuosa do sistema imunológico do corpo. Mostrado por uma cascata de citocinas, que incluem a interleucina-6 (IL-6), marcadores inflamatórios como a proteína C reativa (CRP) e aumento de produção de fibrinogênio com hipercoagulabilidade do sangue. Sendo essa tempestade de citocinas, além da baixa imunidade causada pela diminuição de linfócitos e células NK, os possíveis responsáveis para pneumonia grave. Essa hipercoagulabilidade pode também induzir múltiplos trombos em outras partes do corpo incluindo pulmões e coronárias com potencial morbidade, onde o aumento de citocinas como a Interleucina-6 (IL-6) que pode ativar a coagulação e suprimir o sistema fibrinolítico (HEGAZY, 2020).

Vários fatores podem estar atuando como gatilhos da coagulação, o processo inflamatório persistente em casos graves de COVID-19 é um deles, além da lesão de células endoteliais pulmonares e periféricas ocorrendo por ataque viral direto pode ser outro gatilho para a cascata de coagulação, isso potencializa uma reação imunológica agressiva. A presença de trombos nos vasos é marcada por tempo de protrombina prolongado, níveis elevados de dímero-D e fibrinogênio e tempo de tromboplastina parcial ativada próximo ao normal, o que pode levar à coagulação intravascular disseminada (CIVD) e múltiplos trombos sanguíneos (FEHR et al., 2020).

4.3 Manifestações Clínicas

É possível notar que o risco das infecções sintomáticas do coronavírus aumentem com a idade, reforçando a importância dos hábitos de higienização (pessoal e ambiental) e do isolamento social, mesmo quando há ausência de sintomas (XAVIER et al., 2020). A transmissão do vírus está ligada a carga viral no trato respiratório superior, e pode ocorrer por meio de dispersão de gotículas salivares (fala, tosse e espirros), contatos com pessoas (aperto de mão ou beijos) ou contato com objetos pessoais do paciente, como telefones, maçanetas e chaves, e posteriormente contato com as mucosas. (XAVIER et al., 2020)

Existem 3 principais condições que a infecção por SARS-CoV-2, pode apresentar-se: portadores assintomáticos, indivíduos com doença respiratória aguda (DRA) ou pacientes com pneumonia em diferentes níveis de gravidade. Os sintomas mais evidentes, estão presentes em pacientes com testes moleculares positivos, e o diagnóstico de pneumonia é confirmado com manifestações respiratórias e exames de imagem, que estejam compatíveis com o diagnóstico. No início da infecção, os pacientes registram sintomas em comum, como febre, tosse, mialgia e fadiga, as vezes podendo ser acompanhado por secreções da respiração, diarreia e cefaleia

(XAVIER et al., 2020). Os pacientes que quase sempre exigem maior atenção da equipe médica, são aqueles que os sintomas progridem para febre alta, taquipneia e dispneia, além de outras indicações clínicas relevantes. Embora boa parte dos pacientes tenham um progresso com bons resultados, deve-se sinalizar que em idosos ou indivíduos que façam parte do grupo de risco (com comorbidades crônicas, diabetes, hipertensão, doenças renais e cardiovasculares, a COVID-19 costuma manifestar-se de forma mais agressiva, desenvolvendo pneumonia e a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), além de disfunções nos órgãos renais, hepáticos e cardíacos. (XAVIER et al., 2020)

Segundo o Ministério da Saúde (atualização em 01/2021), dos pacientes infectados, 80% não apresentaram gravidade da doença, e somente 20% precisaram de oxigenoterapia em uma unidade hospitalar e menos de 5% dentro dos 20%, realmente necessitaram de unidade de terapia intensiva (UTI) com suporte ventilatório. Xavier et al. (2020), apresenta um estudo realizado por metanálise, mostrando as principais manifestações clínicas dos pacientes em diferentes estudos. Os principais sintomas foram: febre (88,3%); tosse (68,6%); mialgia ou fadiga (35,8%); expectoração (23,2%); dispneia (21,9%); cefaleia ou tontura (12,1%); diarreia (4,8%) e vômitos ou náuseas (3,9%). A sintomatologia no geral, se assemelha ao de outras infecções respiratórias virais e comuns, como o vírus da *Influenza* (H1N1), a principal diferença clínica entre elas é a presença de febre alta e dispneia como fator chave da presença do COVID-19, mesmo com sintomas clínicos bem parecidos, o COVID-19 tem uma tendência a evolução para infecções graves e críticas, exigindo um suporte ventilatório ou oxigenoterapia. (XAVIER et al., 2020).

Embora menos descrita nos casos relatados, a presença da perda ou diminuição de olfato ou de paladar em pacientes sem coriza ou congestão nasal teve um grande destaque, o que leva a um aumento da possibilidade de que o SARS-CoV-2, tenha comprometimento direto com a função neurológica, embora a necessidade de estudo seja ainda maior. (XAVIER et al., 2020). Na China, Gwuan et al. (2020) descreve um estudo observacional em um Hospital em Wuhan, onde muitos pacientes haviam sido tratados da COVID-19. Numa população de N = 1.099 pacientes, em seus resultados datados, o principal sintoma foi a tosse (67.8%) seguidos de fadiga (38.1%) e produção de escarro (33.7%). O primeiro sinal de infecção foi relatado com inchaço na amígdala (2.1%) e a principal comorbidade associada foi a hipertensão (15.1%). A principal complicação continuava sendo a síndrome respiratória aguda grave (3.4%), sendo que no dobro dos casos, houve aumento de febre durante a hospitalização do que no processo de admissão. O tempo médio de internamento foi de 12 dias, sendo que 5% tiveram alta e 1.4% foram a óbito.

4.4 Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial do COVID-19 compreende a avaliação dos testes bioquímicos e de imagem, que identificam a infecção e atuam na urgência do seu possível tratamento. Em qualquer pandemia, resultados laboratoriais rápidos e validados são de extrema importância para o diagnóstico precoce, o que aumenta a taxa de sucesso sobre a doença em um tratamento eficaz e a não propagação da doença (NADOUSHAN et al., 2020). Atualmente os diagnósticos existentes atuam para identificação e tempo da infecção vigente, descarte de infecção, testar infecções anteriores e imunidade (DINNES et al., 2020).

Os dois testes mais comuns no momento é a reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) e os testes sorológicos (anticorpos). O RT-PCR é o teste padrão ouro para diagnóstico etiológico de infecções, é um teste genético onde se conhece as informações do vírus SARS-CoV-2, ele amplifica sequências de RNA do vírus, para detecção do material genético viral por técnicas de imunofluorescência, possibilitando sua identificação. Ele foi rapidamente desenvolvido e validado, fornecendo informações valiosas no início da infecção, com resultados oferecidos dentro de algumas horas ou em até 2 dias, podendo ser feito também em larga escala. Porém, deve-se observar que esse teste possui algumas desvantagens, como baixa sensibilidade (dependendo do período de coleta), baixa estabilidade, longo tempo de processamento, maior tempo necessário entre a coleta e a disponibilização do resultado, a necessidade de estrutura física especializada e de equipe técnica qualificada, algum desses processos feito de maneira errônea pode causar uma alta taxa de falsos-positivos (MINISTERIO DA SAÚDE, 2020; NADOUSHAN et al., 2020; OPAS, 2020; YOUNES et al., 2020).

Os testes de RT-PCR utilizam diversas amostras biológicas para pesquisa, como fluido de lavagem bronco alveolar, biópsia broncoscópica, escarro, esfregaços nasais, esfregaços faríngeos, fezes ou sangue, porém as amostras de esfregaço do trato respiratório superior são as de mais fácil coleta e acesso. Amostras do trato superior incluem *swab* de nasofaringe e orofaringe e do trato inferior a expectoração, que é atualmente considerada melhor do que esfregaços de orofaringe ou de nasofaringe, porém é mais difícil de obter. (DINNES et al., 2020; YOUNES et al., 2020).

As condições principais para análise desse conjunto de fatores é identificação infecção atual e da passada pelo SARs-CoV-2, os testes de anticorpos estão sendo considerados e avaliados para ambos os casos, porém os testes de anticorpos não são capazes de distinguir a gravidade da doença. No quadro de infecção vigente, a gravidade da doença é importante,

porque de acordo com os níveis de infecção por SARS-CoV-2 em que a pessoa se encontra (assintomática, leve ou moderado, grave, crítico) vão requerer um tratamento diferente para cada paciente, e é importante ser capaz de identificá-los. (DINNES et al. 2020). O Ministério da Saúde do Brasil, recomenda que o teste do RT-PCR seja feito entre o terceiro e o nono dia, segundo o Órgão, é nessa fase que é possível encontrar maior carga viral.

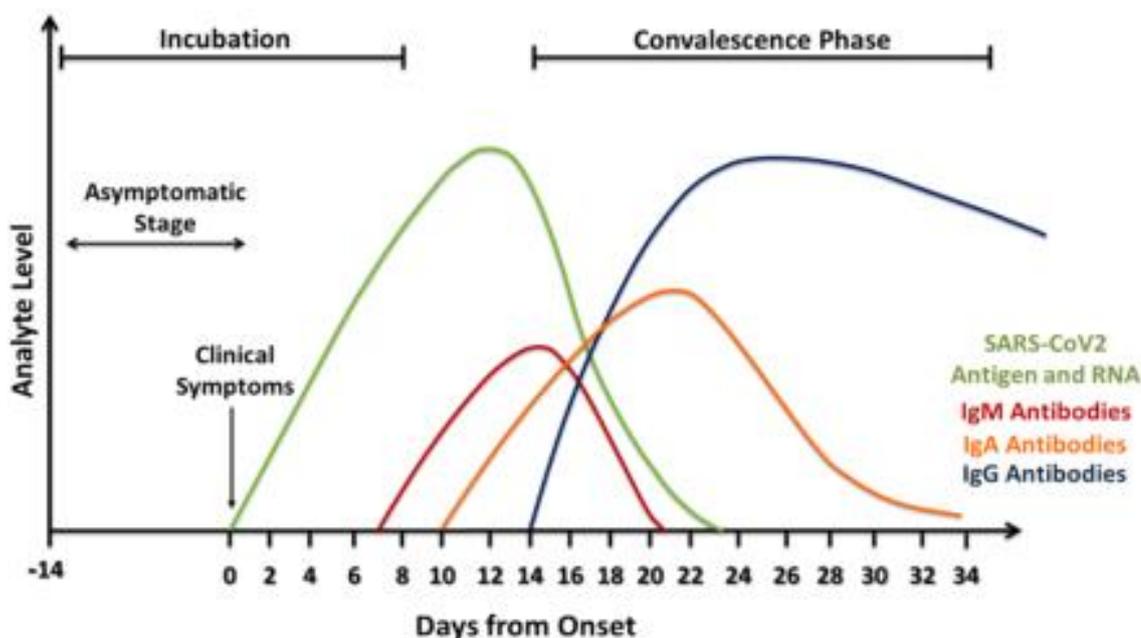
O segundo, são os testes sorológicos, eles atuam na identificação de anticorpos IgM e IgG ao SARS-CoV-2, são comumente aplicados como testes rápidos ou processados em laboratório, porém não são recomendados para a confirmação diagnóstica de pacientes com sintomas de início recente, devido à falta de anticorpos no combate a infecção aguda, podendo gerar resultados falso-negativo. Embora esses testes apresentem bons diagnósticos em pacientes com tempo de evolução do quadro superior a oito dias, o tempo de janela imunológica reduz a sensibilidade do teste, quando aplicado em fases mais precoces (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020; XAVIER et al., 2020).

Os anticorpos são formados pelo sistema imunológico do corpo, em resposta a infecções virais, e pode ser detectado em todo sangue, plasma ou soro. São os testes sorológicos que medem os anticorpos ou antígenos presentes no sangue quando o corpo está respondendo a uma infecção específica, podendo identificar uma resposta anterior a uma exposição em particular a determinado patógeno. Eles estão se tornando amplamente disponíveis, tanto em plataformas automatizadas, quanto em testes rápidos, feitos em postos de atendimento ao COVID-19, com resultados em até 30 minutos. Os anticorpos são específicos para o vírus, portanto, podem ser usados para diferenciar infecções virais diferentes. Existem três tipos de anticorpos criados em resposta à infecção: IgA, IgG e IgM; estes variam em quantidade em momentos diferentes, após o início de infecção. O IgG é usado na maioria dos testes de anticorpos, pois persiste por mais tempo no corpo e reflete uma imunidade de longo prazo, embora seja o último a surgir numa infecção. O IgM normalmente aumenta rapidamente com a infecção e diminui quando a infecção é cessada. Alternativamente, os testes podem combinar IgA com IgG, ou medir todos os anticorpos (IgA, IgG e IgM). (DINNES et al., 2020; OPAS, 2020; YOUNES et al., 2020)

Os ensaios sorológicos IgM e IgG, foram desenvolvidos com base no conhecimento dos antígenos do SARS-CoV-2. No entanto, existem algumas perguntas (ainda confusas) para os testes sorológicos, como; em que momento ocorre a soroconversão? Todos os pacientes produzem anticorpos? Os indivíduos com o teste sorológico positivo possuem o risco de reinfecção? E qual o nível de anticorpos que pode evitar uma reinfecção? Isso mostra que os testes sorológicos tem algumas limitações, levando em conta a respostas lenta dos anticorpos

ao vírus, sendo detectáveis em pelo menos de 6-7 dias após a infecção, como mostra a figura 3., não sendo indicados para indivíduos que estão no estágio inicial da doença, porém, apesar de tudo os testes sorológicos têm sido muito úteis na pandemia, fornecendo bastante documentação técnica para pesquisas; além de aplicação na saúde pública, detectando o passado da infecção. identificando indivíduos que desenvolveram anticorpos específicos ao vírus; auxílio no tratamento com plasma convalescente; no teste de eficácia da vacina e nos protocolos de retorno a rotina e a vida pré-pandemia; e as amostras sorológicas são conhecidas por serem mais estáveis do que o RNA viral, aguentando mais tempo de deslocamento e transporte e pouca deterioração durante a coleta, em comparação com o teste RT-PCR (NADOUSHAN et al., 2020; XAVIER et al., 2020; YOUNES et al., 2020).

Figura 3 - Estimativa dos níveis de biomarcadores durante a infecção do SARS-Cov-2.



Fonte: Younes et al., 2020.

Apenas vale ressaltar que quando o resultado for negativo para COVID-19 em um teste sorológico, provavelmente o paciente não estava infectado no momento da coleta da amostra. No entanto, isso não significa que ele não vai ficar doente ou que não teve contato com o vírus. Existem alguns relatos de contaminação com sintomas leves, em que o indivíduo não desenvolveu anticorpos, devido ao pressuposto que sua imunidade celular inata tenha combatido o vírus antes da produção de anticorpos, pelo sistema imunológico adaptativo. Por

isso a combinação de resultados sorológicos mais moleculares, geram um diagnóstico valioso (XAVIER et al., 2020; YOUNES et al., 2020).

Considerando todas as limitações e acertos dos diagnósticos laboratoriais, esses não devem ser, de forma isolada, o único método de diagnóstico para pacientes com suspeita de COVID-19, devido a quantidade de falsos-negativos que ocorrem no início da doença. O ministério da saúde, considera outros tipos de exames como validos, para exclusão de diagnósticos precoce.

Xavier et al. (2020), descreve as alterações laboratoriais mais frequentes em pacientes com COVID-19, em ordem de aumento, existe a da proteína C reativa (PCR) com 75%-93% e com diminuição da albumina sérica em 50%-98%, a contagem total de leucócitos com considerável variação, conforme relatos na literatura, por vezes aparecendo alta ou diminuída, mas com evidente presença de linfopenia (35%-75%). Há também diminuição da hemoglobina de cerca de 41% a 50% e aumento na alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) de cerca de 8%-37, lembrando que esses exames não são específicos para COVID-19, e podem estar alterados em inúmeras doenças. Em relação a cascata inflamatória, a Interleucina-6 sérica (IL-6), aumenta de acordo com a progressão da SARS, a progressão está associada ao aumento extremo de citocinas inflamatórias e problemas no sistema fibrinolítico, que pode gerar um quadro de coagulação intravascular disseminada (CIVD), desenvolver complicações tromboembólicas ou deposição microvascular de coágulos, que contribuem para falência múltipla de órgãos, podendo levar o paciente a morte.

Exames de imagem como raio-X e tomografia computadorizada (TC) do tórax, onde no primeiro, a maioria dos pacientes com suspeita de pneumonia, mostram que ocorrem infiltrações pulmonares nos dois pulmões em 75% dos pacientes sintomáticos (MINISTÉRIO DA SAUDE DO BRASIL,2020). A tomografia computadorizada do tórax, é um exame não invasivo, e mesmo sendo um exame de imagem convencional, possuem alta precisão e velocidade, o Ministério da Saúde do Brasil, recomenda solicitar uma tomografia computadorizada do tórax em todos aqueles pacientes com acometimento do trato respiratório inferior, e que achados anormais de tomografia computadorizada do tórax foram relatados em até 97% dos pacientes.

Younes et al. (2020) relata que a sensibilidade o TC do tórax é maior do que RT-PCR para detectar o SARS-CoV-2 e evidências mostraram que pacientes assintomáticos apresentam alterações seguras na TC muito cedo, antes mesmo do exame RT-PCR concluir como positivo, segundo Feng et al. (2020) em pesquisa clínica, em Wuhan na China. É

plausível que mesmo com diagnóstico negativo no PCR, o paciente sintomático passe pela TC do tórax como mais uma abordagem eficiente. (YOUNES et al., 2020).

Uma outra abordagem de ensaios é a ELISA, feita de forma manual, foram desenvolvidos para detecção rápida de anticorpos neutralizantes (IgM, IgG e IgA) contra o novo coronavírus. Assim como existe a fabricação de kits de ELISA manuais comercialmente disponíveis para detectar antígenos virais do SARS-CoV-2, no entanto, eles servem principalmente para pesquisa e não para diagnóstico clínico. Apesar de fornecer informações valiosas sobre a resposta imune ao vírus, o teste ele não pode ser usado para triagem ou diagnóstico de infecção precoce, uma vez que anticorpos IgM e IgG específicos não são detectáveis nesta fase, ao contrário do RT-PCR. Outro desafio do uso de ELISA manual para detecção de SARS-CoV-2 é o tempo necessário para o desenvolvimento de anticorpos IgG específicos, o teste sorológico provavelmente não desempenhará um papel ativo na detecção de casos iniciais, exceto para diagnóstico / confirmação de casos tardios ou para determinar a imunidade do pessoal de saúde conforme o surto progride (YOUNES et al., 2020).

Os valores positivos dados a RT-PCR e a soroconversão, varia em diferentes grupos de indivíduos infectados, isso pode incluir a maior parte da população de pacientes assintomáticos, mal diagnosticados e os não notificados. Mesmo com a existência de diversos artigos, para a vigilância epidemiológica, existe uma necessidade de coleta de amostras clínicas para detecção viral ou resposta imune em larga escala, porém existe um elevado custo de testagem em massa, por isso o uso racional de ferramentas laboratoriais é fundamental, com o auxílio de uma anamnese eficiente na triagem de indivíduos com suspeita de infecção, orientando os médicos por meio de protocolos e diretrizes, para o uso racional de medicamentos e do requerimento de exames específicos, ainda sim a testagem em massa seria fundamental para definição de uma situação real dessa doença em determinados sítios com elevados níveis epidemiológicos (XAVIER et al., 2020).

4.5 Resposta Imune-antiviral

As opções terapêuticas mais comuns para infecções causadas por vírus, de um modo geral são voltadas para evitar a replicação viral, bloquear a entrada do vírus na célula ou promover imunidade celular e humoral com memória imunológica, quando não há uma rápida possibilidade de vacinação. O sistema imunológico humano responde de duas formas diferentes, porém seguidas na maior parte das vezes, a invasões microbiológicas; o sistema imune inato e o adquirido. O sistema imune inato corresponde a uma resposta imediata plena, por isso são chamados de primeira linha de combate. (FIOCRUZ, 2009; VABRET et al.,

2020). Eles são mediados em maior parte por células, porém não são específicos a determinados tipos de organismos, nem possuem memória imunológica. Já imunidade adquirida é também conhecida como imunidade adaptativa, ela se difere da imunidade inata na resposta específica ao antígeno ou patógeno, além de possuir memória imunológica pós-infecção, o único problema é que sua ativação é demorada devido ao desencadeamento da especificidade adquirida no combate ao invasor. Na infecção por COVID-19, existe os dois sistemas atuando de forma plena, porém com algumas perdas em ambos os lados (FIOCRUZ, 2009; VABRET et al., 2020; VARDHANA et al., 2020).

Em Wuhan, um relatório médico de 99 casos, mostrou um aumento dos neutrófilos totais (38%), redução de linfócitos totais (35%), a IL-6 sérica aumentada (52%), além do aumento da proteína c reativa (84%), nesses casos neutrófilos aumentados e linfócitos diminuídos também se correlacionam com a gravidade da doença e morte, como será explicado em breve. Em relação aos pacientes que estavam na Unidade de Terapia Intensiva (UTI), apresentaram níveis plasmáticos mais elevados de muitas citocinas inatas, IP-10, MCP-1, MIP-1A e o fator de necrose tumoral alfa (TNF α), essas características clínicas sugere condições altamente pró-inflamatórias na progressão e na gravidade de doença (KETLOY et al., 2020).

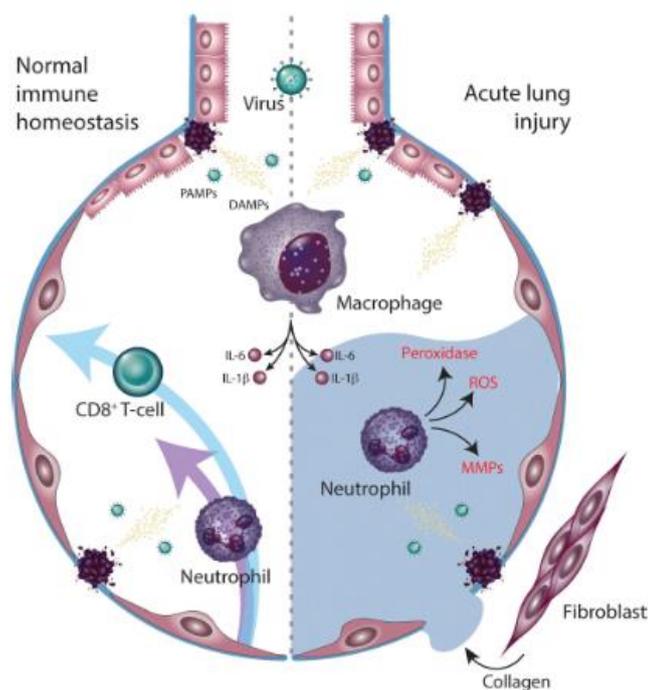
No início de uma resposta imune inata, as células precisam reconhecer o vírus que causou a invasão, geralmente utilizando os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) que são padrões de moléculas reconhecidas pelas células do sistema imune inato como sinal de invasão por um grupo de agentes patogênicos, podem ser lipídios, lipoproteínas, proteínas e ácidos nucleicos de origem bacteriana, viral, parasitária e fúngica, localizados no interior celular ou na superfície. Além dos PAMPs existem os padrões moleculares associados a danos (DAMPs), que ativam os macrófagos através de conteúdo intracelular liberado de células que estão morrendo e / ou proteínas liberadas após lesão de tecidos. Tanto os PAMPs quanto os DAMPs são provavelmente gerados durante a infecção inicial e lise de pneumócitos por COVID-19, o que explica a síndrome respiratória aguda severa, gerado no processo de dano epitelial e pela quantidade de macrófagos no tecido pulmonar (KETLOY et al.; VARDHANA et al., 2020).

No caso do SARS, que é um vírus de RNA, são reconhecidos pelos receptores de RNA endossômico, TLR3 e TLR7, que atuam em PAMPs virais, em compartimento celular, mediados por células como dendríticas e linfócito B. Este evento de reconhecimento leva à ativação da cascata de sinalização, induzindo a expressão de Interferon tipo I e outras citocinas pró-inflamatórias, sendo essas respostas iniciais, compreendidas como primeira

linha de defesa contra infecção viral, com potencial para aumentar ou suprimir a transcrição de mais de 2.000 genes diferentes. O Interferon (IFN) do tipo I, é a principal resposta do sistema imune inato, e a sua cascata é responsável por impedir a replicação viral, o que vai culminar numa resposta imune inata eficaz no momento inicial da infecção. A produção de interferons tipo I e tipo III promove defesas antivirais intracelulares em células epiteliais vizinhas, o que pode limitar a disseminação viral, enquanto a liberação de Interleucina-6 (IL-6) e Interleucina-1 (IL-1 β) por macrófagos, promove o recrutamento de neutrófilos e células T citotóxicas. (GARCIA et al., 2020; KETLOY et al., 2020; LI et al., 2020; VABRET et al., 2020; VARDHANA et al., 2020).

Para SARS-CoV, a resposta à infecção viral mediada pelo IFN-I é suprimida. Os coronavírus empregam estratégias múltiplas para interferir na sinalização que leva à produção de IFN tipo I. Essa estratégia de “defesa” está intimamente associada à gravidade da doença. Durante a sinalização do IFN-I, o SARS intervém na cascata dos sensores de RNA e degradam as moléculas adaptadoras desse sensor, além de inibir a translocação nuclear do Interferon tipo III (IFN-III), que auxilia o IFN-I no estímulo a produção de proteínas que interferem com a replicação viral e estimula mitose de linfócitos. A replicação viral ativa, posteriormente resulta em hiperprodução de IFN tipo I e influxo de neutrófilos e macrófagos, que são as principais fontes de citocinas pró-inflamatórias. Nos casos graves de SARS-CoV, é observado de forma consistente o aumento de neutrófilos e monócitos-macrófagos, estudando o fato de que o IFN-I em desregulação e citocinas inflamatórias advinda de monócitos-macrófagos são a principal causa de pneumonia letal. O aumento dessas células imunes inatas produz consequências de deterioração para o hospedeiro infectado que se manifestam na imunopatologia pulmonar, como na figura 4, incluindo pneumonia ou síndrome do desconforto respiratório agudo (CATANZARO et al., 2020; ESTIPONA, 2020; KETLOY et al., 2020; VARDHANA et al., 2020).

Figura 4 - Atividade imunológica inata em defesa antiviral e toxicidade do tecido pulmonar. Os DAMPs e os PAMPS ativam os macrófagos residentes no tecido alveolar. Os macrófagos liberam em cascata a IL-6 e IL-1 β recrutando neutrófilos e células TCD8+, que controlam o crescimento viral (esquerda), mas causam danos ao tecido pulmonar (direita), levando a inundações e fibrose.



Fonte: Vardhara et al., 2020.

A imunidade adaptativa, é um subsistema do sistema imunológico inato, constituído por células especializadas, como citado anteriormente, que são processadas para eliminar os patógenos desde suas raízes, impedindo seu crescimento (ABDULLAH et al., 2020). A resposta imune adaptativa geral é baseada em células T auxiliares (TCD4+), ou T Helper, que desempenham um papel dominante na imunidade adaptativa do hospedeiro a qualquer antígeno viral. As células apresentadoras de antígenos (APC), que na sua maioria são células fagocíticas, ativam a citocina, que atua como indutor das respostas das células T citotóxicas (TCD8+), que matam diretamente as células dominadas por vírus (ABDULLAH et al., 2020; VARDHANA et al., 2020; KELLAM et al., 2020).

Foi relatado em estudos com 128 amostras, que no caso do SARS-CoV, o título de anticorpos neutralizantes é diretamente proporcional às respostas das células T, quanto mais alto o título, mais alto serão as respostas, porém a resposta das células T CD8 +, embora crucial, precisa ser bem controlada para não causar patologia pulmonar. (ABDULLAH et al., 2020; KETLOY et al., 2020).

A resposta imune humoral, trabalha na produção de anticorpos neutralizantes, desempenhando um papel protetor, limitando a infecção na fase posterior e evitando a reinfecção no futuro. Na infecção por SARS-CoV, os epítomos de células T e B foram extensivamente mapeados, durante o mapeamento, a maioria das respostas (70%) foram encontradas contra as proteínas estruturais (pico, envelope, membrana e nucleocapsídeo) que

são a S, E, M e N respectivamente. Entre muitas dessas proteínas virais codificadas pelo COVID-19, as proteínas N e S são os antígenos mais imunogênicos. Os anticorpos contra a proteína N aparecem primeiro, e apesar de ser um marcador sérico precoce é confiável para exposição ao vírus, todavia, os anticorpos contra a proteína S se desenvolvem um pouco mais tarde e pode se ligar ao envelope viral. Isso compreende que o IgG contra a proteína S é um marcador de exposição viral que indica recuperação. Como a maioria dos epítomos identificados para ambos os vírus se concentram nas proteínas estruturais virais, será informativo mapear os epítomos identificados no SARS-CoV / MERS-CoV com os do SARS-CoV-2. Com os epítomos dos três vírus identificados, será benéfico para aplicação em imunização passiva usando soro convalescente de pacientes recuperados de SARS ou MERS (ABDULLAH et al., 2020; KETLOY et al., 2020).

Os pacientes respondem ao vírus gerando anticorpos IgM específicos em até 6 dias pós exposição ao SARS-CoV-2, em seguida responde com a produção de IgG em pouco mais de uma semana, sendo que pacientes graves do sexo feminino geram títulos de IgG mais precoces e mais elevados, assim, esse tipo de informação ajuda no desenvolvimento de estudos que indicam que o soro convalescente contém anticorpos que podem neutralizar o SARS em cultura de células, e posteriormente testado em humanos com sintomas graves. Evidências significativas indicam que uma resposta imune inata desregulada contribui para a apresentação clínica de pacientes com infecções graves por COVID-19 (FOCOSI et al., 2020; VARDHANA, et al.,2020; KELLAM et al.,2020).

Ciente dessas observações acerca da soroconversão e do tempo de memória imunológica, um estudo feito por Mo et al. (2006) mostrou que de 98 pacientes com SARS, todos tinham títulos de ligação de anticorpos detectáveis ao longo de 2 anos, mas que, em um subconjunto, os títulos diminuíram durante este período. Dezoito indivíduos com anticorpos neutralizantes tiveram títulos que atingiram o pico no dia 30 após alta e depois declinaram gradualmente de modo que após 2 anos, 1/18 não tinham anticorpos neutralizantes detectáveis, e os pacientes restantes tinham títulos de anticorpos baixos próximos aos níveis basais. Devido a essa situação, pequenos grupos de estudos tentaram detectar se existe possibilidade de reinfecção por CoVs endêmicos nas suas comunidades. Em alguns hospitais no Quênia, reinfecções por coronavírus humano foram detectadas ao longo de um período de 6 meses (dezembro a maio de 2010) em 46 de 163 pacientes (28%). A maioria das reinfecções resultou em títulos de vírus baixos e diminuição da doença. No entanto, para um pequeno número (11%), a reinfecção resultou em maior dispersão do vírus em comparação com a infecção anterior. Levando a probabilidade de que quando as reinfecções ocorreram até 80

dias após a primeira infecção, a carga viral da infecção secundária foi geralmente baixa. No entanto, a reinfecção após 80 dias pode resultar em alta carga do genoma viral, sendo capazes de transmissão posterior (KELLAM et al.,2020).

Consideravelmente mais estudos sorológicos bem controlados são necessários, com mais foco em como os ensaios de ligação de anticorpos se correlacionam com as medidas de proteção sorológica contra a infecção e reinfecção do vírus, como os ensaios de neutralização do vírus. É claro que a maioria das pessoas infectadas com SARS-CoV-2 exibe uma resposta de anticorpos entre 10 e 14 dias após a infecção. Em alguns casos leves, a detecção de anticorpos requer muito tempo após os sintomas e, em um pequeno número de casos, os anticorpos não são detectados, pelo menos durante a escala de tempo dos estudos relatados (KELLAM et al., 2020).

4.6 Terapia de Imunização Passiva

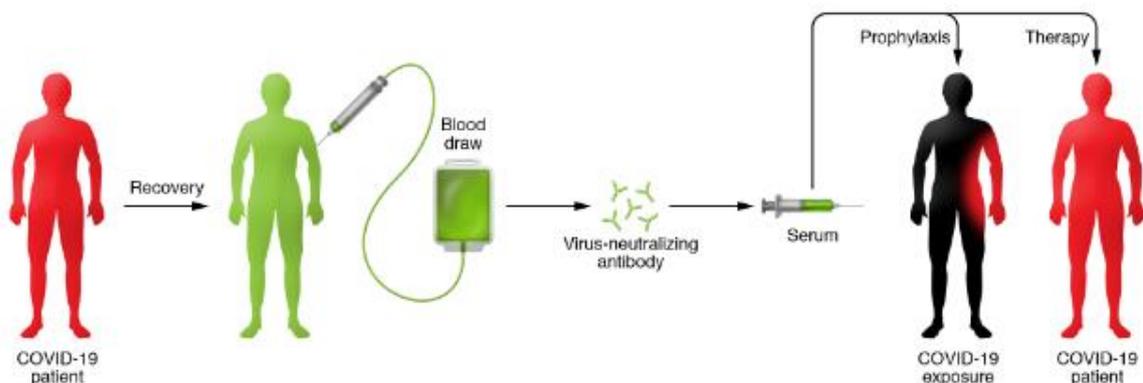
Sem o desenvolvimento oficial de uma vacina e a falta de opções terapêuticas com resultados comprovados e efetivos, a terapia de plasma convalescente tem sido considerada como uma das apostas de controlar o avanço da SARS em pacientes graves ou de forma profilática. Conhecida como terapia de imunização passiva, ela é relatada pela transferência de anticorpos específicos do patógeno, a pacientes em risco de desenvolver ou que sofram no momento com a infecção, com o objetivo de promover uma imunização à curto prazo até que o indivíduo consiga desenvolver uma resposta imune ativa. A aplicação terapêutica é abordada na forma grave ou inicial; na forma grave, em pacientes internados com insuficiência respiratória grave (FR>30; SatO₂<30%) e precoce, no início dos sintomas. Além da forma terapêutica, existe a profilática que abrange a equipe de saúde e das pessoas que foram recém expostas a contaminados (BOECHAT et al., 2020; KUMAR et al., 2020; KU et al., 2020).

A técnica abordada iniciou-se no começo dos anos de 1900, no início do século XX. Porém os primeiros relatos de sucesso do uso dos hemocomponentes foram em 1918, quando 1.703 pacientes foram tratados de pneumonia e influenza espanhola, com plasma convalescente, o que causaram um declínio clinicamente significativo no risco de morte. (OZDEMIR et al., 2020; ROJAS et al., 2020; KUMAR et al., 2020; KU et al., 2020).

Nessas epidemias, alta letalidade e falta de terapêutica comprovada levaram à utilização de soro de convalescença. Derivado de amostras da literatura anterior, segundo pesquisadores, o que foi de extremamente importante para abordagens terapêuticas como sarampo, caxumba e influenza (BLOCH et al., 2020; KUMAR et al., 2020; KU et al., 2020).

Esses anos de pesquisa sugeriram que tanto o processo quanto a teoria são simples. Basicamente o sangue de uma pessoa recém recuperada de uma infecção viral é coletado e as hemácias são separadas do plasma. Esse soro coletado, possui anticorpos produzidos por antígenos de uma pessoa que se recuperou com sucesso, então o soro é injetado na pessoa infectada para que os anticorpos combatam o antígeno do vírus, como na figura 5 podendo ocorrer através de uma técnica comum chamada aférese, no qual será discutido posteriormente. Os anticorpos que estão presente nesse sangue “imune” podem mediar seus efeitos terapêuticos em diversas formas, são capazes de se ligar ao “antígeno” viral que é uma molécula específica que está presente no organismo que invadiu o corpo humano, e neutraliza, impedindo sua atividade infectante diretamente, como também ativando via complemento, o que fagocita ou opsoniza o antígeno. (BLOCH et al., 2020; MORABITO et al., 2020; KUMAR et al.,2020).

Figura 5 - O esquema mostra o uso plasma convalescente no COVID-19. Basicamente, um indivíduo que se apresentava enfermo com SARS-CoV-2, se recupera e os anticorpos neutralizantes do vírus, produzidos no seu sangue, é coletado, identificado e administrado de maneira profilática, na prevenção do vírus em determinados indivíduos (ex.: profissionais de saúde) e potencialmente em indivíduos ainda infectados com a doença na expectativa de que diminua seus sintomas e a mortalidade.



Fonte: Casadevall et al. (2002)

Os estudos anteriores que relatam o tratamento feito com outros coronavírus, como SARS e MERS, demonstram que a administração do plasma de pacientes convalescentes que

contem anticorpos em níveis elevados, ajuda a reduzir a disseminação da infecção e da mortalidade, diminuindo o tempo de internação e os sintomas clínicos, sem efeitos colaterais significativos e com produção tecnologicamente acessível e simples. Shen et al., 2020 apud Kumar et al., 2020, descrevem em um ensaio clínico que a transfusão de plasma convalescente possui benefícios no tratamento de pacientes em estado crítico por SARS-CoV-2, tendo em vista que o mesmo não é considerado transmissível por transfusão de sangue, além de ter um alto potencial de resultados positivos. Kumar et al. (2020) destaca os desafios e riscos da administração passiva de soros convalescentes, o principal desafio é a disponibilidade de doadores, o rastreamento pode ser difícil e demorado encontrar pacientes aptos para a doação, e os riscos seriam as transmissões de doenças séricas, que são aquelas associadas à transmissão de outras infecções sanguíneas por transfusão (BLOCH et al., 2020; KUMAR et al., 2020).

Para a que ocorra a imunização passiva, é muito importante isolar os anticorpos produzidos pela doença do SARS-CoV-2 recuperada do paciente, já que os anticorpos aumentados, devem ser produzidos em larga escala para o tratamento de pacientes, como uma forma rápida de profilaxia ou emergência, enquanto o desenvolvimento eficaz, como vacina, é um processo mais demorado, tanto quanto novos medicamentos. Nas doenças de origem viral, os anticorpos atuam através da ativação do complemento, opsonização e mediação da citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC) e principalmente através da neutralização viral, que seria o bloqueio a entrada da célula viral, evitando assim sua replicação (MORABITO et al., 2020).

Os anticorpos de neutralização podem ter como alvo um epítopo comum nesses vírus e oferecem potencial para a prevenção e o tratamento de COVID-19, eles incluem os anticorpos específicos ao patógeno de todos os isotipos de imunoglobulina (IgG, IgM, IgA e IgE). Na infecção por SARS-CoV-2, o antígeno-alvo principal que está associado à neutralização é a proteína Spike, que é responsável pela ligação do SARS-CoV-2 às células epiteliais, incluindo pneumócitos. Os anticorpos nas imunoterapias passivas de Covid-19 são policlonais por natureza, com múltiplos epítotos contra os paratopos SARS-CoV-2, incluindo o domínio de ligação ao receptor (RBD) na proteína Spike, o que também pode ser considerado um bom antígeno para vacina, pois contém regiões que induzem a produção de anticorpos neutralizantes para prevenir a ligação de SARS-CoV-2 a ACE2 (ABDULLAH et al., 2020; MORABITO et al., 2020).

4.7 Coleta e Avaliação

Muitos estudos com resultados promissores e positivos, relatam a eficiência do uso do plasma convalescente no SARS-CoV e no SARS-CoV-2, porem todos foram controlados de

Efeitos adversos da transfusão do plasma convalescente em pacientes com COVID-19	
Reações Menores	Reações Moderados/Graves
Elevação transitória da temperatura corporal	Reações imunológicas aos ingredientes do

forma inadequada, sugerindo a possibilidade de viés. Ainda assim, nenhum dos estudos analisados em revisões sistemáticas relataram eventos adversos graves, embora o relato de tais eventos certamente não fosse abrangente. Os estudos recentes em pacientes COVID-19 mencionados anteriormente não relataram quaisquer eventos adversos significativos (quadro 1). (TIBERGHIEEN et al., 2020)

de 0,5-1,5 °C em até 120 minutos pós transfusão (9 %).	Soro.
Coceira ou Erupção Cutânea (4 % - Em transfusões muito rápidas).	Anafilaxia
Flebite e Icterícia generalizada (3 %).	Transmissão do potencial patógeno
	Sobrecarga circulatória associada à transfusão (TACO) em pacientes especificamente com doença cardiorrespiratória, idade avançada e insuficiência renal.

Quadro 1: Efeitos adversos da transfusão do plasma convalescente.

Fonte: Ozdemir, 2020. (Modificado)

Os doadores podem ser encontrados e identificados, por exemplo, através de estudos de coorte entre hospitais, a nível nacional que cuidam de pacientes com COVID-19, os contactando através de mensagens sociais específicas, na medida que aumenta o número de indivíduos que recebem alta por cura, também aumenta o número de doadores potenciais e elegíveis de plasma convalescente. Porém, para a coleta do plasma, é necessário destacar uma série de limitações práticas e alguns obstáculos nos programas de coleta do plasma convalescente em hemocentros ou hospitais especializados, principalmente se existe o planejamento de coleta em grande escala. (BLOCH et al., 2020; TIBERGHIEEN et al., 2020)

O primeiro passo consiste na elegibilidade do doador convalescente. Não se pode contar apenas com a ausência dos sintomas, a triagem com coleta é indispensável na seleção do doador, o que torna o serviço sobrecarregado em selecionar doadores aptos. Os critérios se enquadram principalmente em; negativo para SARS-CoV-2 em teste molecular (RT-PCR) através de esfregaço nasofaríngeo ou sanguíneo, com pelo menos 14 dias após cessar os sintomas principais. Os indivíduos precisam estar livres de vírus no momento da coleta de sangue, devido ao risco potencial para a equipe de coleta de sangue e outros doadores. Os riscos específicos relativos ao plasma humano anti-SARS-CoV-2 incluem a transmitido por transfusão. Isso é um discurso teórica, sendo que o receptor já está infectado e no presente momento não há relatos de transmissão de um vírus respiratório por transfusão de sangue (BLOCH et al., 2020; SHEREEN et al., 2020).

O volume do plasma coletado precisa ser adaptado ao sexo, altura e peso de cada doador, aqueles elegíveis devem ser convidados a submeter-se a uma aférese de plasma, sendo direcionado ao hemocentro ou hospital de pesquisa. Por meio do preenchimento de um questionário, é feita a avaliação do histórico dos doadores e exames bioquímicos, conforme especificado pelo FDA e pela ANVISA, reconhecendo os pacientes doadores como voluntários. A aférese consiste numa tecnologia automatizada no qual o sangue total é centrifugado continuamente, até que seus componentes sanguíneos sejam separados (glóbulos vermelhos, plasma e plaquetas) isso permite a coleta seletiva da fração sanguínea desejada com retorno dos demais componentes ao doador. (BLOCH et al., 2020; SHEREEN et al., 2020).

Em pesquisas anteriores, o volume a ser coletado do plasma tem sido bastante variável, aproximadamente 600ml de plasma pode ser submetido a tratamento para redução de patógenos em pacientes graves, ainda sim existe a indagação acerca do volume em profilaxia vs. tratamento. Existe também, outras barreiras que podem impedir o sucesso nas doações por aférese, como títulos insuficientes de Ab neutralizantes, falha em atender os critérios para eleger doadores e exames laboratoriais reprovados. Nesse caso, o mais interessante é concentrar esforços, em recrutar pacientes convalescentes, que apresentaram sintomas e exames clínicos significativos para a COVID-19. Na maioria dos países, os critérios de elegibilidade exigem um atraso entre a cessação da doença e a doação de sangue, isso garante que tenha uma real ausência de infecção. Além do mais, esse atraso pode favorecer os anticorpos com maior afinidade e, portanto, um plasma convalescente otimizado, na melhor das hipóteses (BLOCH et al., 2020; TIBERGHIEEN et al., 2020).

Os estudos anteriores com o plasma convalescente de infecção por SARS-CoV ou influenza (H1N1), não relatam eventos adversos sugestivos de uma provável “reinfecção”, no momento da transfusão. Isso porque é recomendado que seja validade a ausência de RNA do SARS-CoV-2 no plasma coletado, antes da infusão. A França, por exemplo, passa por redução de patógenos, e se mantém em quarentena até pelo menos 2 meses, junto com uma avaliação microbiológica no momento da subsequente doação do plasma (TIBERGHIEEN et al., 2020).

Uma vez tratado e qualificado, é feita a tipagem ABO, a determinação Rh e o plasma seguem para transfusão diretamente ou para criopreservação para transfusão posterior ou para pesquisa (em unidades de 200-250 ml). (ROJAS et al., 2020; TIBERGHIEEN et al., 2020). O processo para aplicação e uso é direto e bastante eficiente: uma ou duas unidades de plasma fresco (aprox. 250-500mL, ou até 5g de IgG) congelado e inativado do vírus, coletado de

paciente convalescente individual é administrado a pacientes enfermos do mesmo grupo sanguíneo. Embora o plasma convalescente seja rastreado para títulos de neutralização, os títulos não são padronizados e a dose de anticorpos que incluem o IgG e outros fatores imunológicos são desconhecidos (BLOCH et al., 2020; MORABITO et al., TIBERGHIEEN et al., 2020; KU et al.,2020).

No momento da transfusão a China empregou uma única unidade (200mL) de plasma, sendo a dosagem selecionada baseada na experiência com o uso anterior de plasmaterapia convalescentes em SARS, que seriam 3,125 ml/Kg de plasma em um título de 1:160. Nos ensaios clínicos essa unidade foi proposta para uso profilático pós exposição, sendo adicionadas até mais um ou duas unidades para o tratamento, nos casos onde a doses profilática foi aplicada, obtiveram resultados positivos. A duração da eficácia dos anticorpos é desconhecida, mas é postulado que dure semanas a alguns meses. Em exemplos de um paciente de 80kg, resultaria em 250 ml de plasma ($3,125 \text{ ml/kg} \times 80 \text{ kg} = 250 \text{ ml} > 1:64$) o que aproxima do volume da unidade programada pelo FDA. Este esquema oferece facilidade logística para a preparação de produtos para transfusões de adultos (CASADEVALL et al., 2020; BLOCH et al.,2020; TIBERGHIEEN et al., 2020).

Para Accorsi et al. (2020) as aplicações de forma profilática, o ideal é o período de 7 dias a partir do início dos sintomas ou em recente exposição, sugere-se também que a administração de volumes seja de 200 a 600 ml de plasma imune (correspondendo aproximadamente a 8–10 ml / kg, com um máximo de 600 ml) uma vez por dia em até três dias consecutivos. Este esquema pode ser repetido uma vez. Volumes maiores podem ser treinados devido ao risco de sobrecarga circulatória associada à transfusão.

A geração de anticorpos com ampla atividade neutralizante contra diferentes coronavírus, ou pelo menos coronavírus relacionados ao SARS, seria de grande valor para enfrentar futuras ondas de doença relacionada ao coronavírus. Se os ensaios clínicos randomizados em grande escala podem demonstrar a eficácia e segurança da PC, seu uso terapêutico entre pacientes com doença grave e uso profilático em populações de alto risco pode mudar o curso desta pandemia em curso. No entanto, anticorpos amplamente neutralizantes contra diferentes coronavírus humanos são muito raros, provavelmente relacionados à variação de sequência da proteína spike e à natureza crítica dos epítomos altamente conservados (KU et al., 2020).

O primeiro alvo dos anticorpos neutralizantes relacionado ao SARS-CoV-2, é a proteína Spike (S), ela desempenha um papel importante na entrada do vírus nas células hospedeiras e para chegar à proteína spike inteira, foram desenvolvidos métodos bem

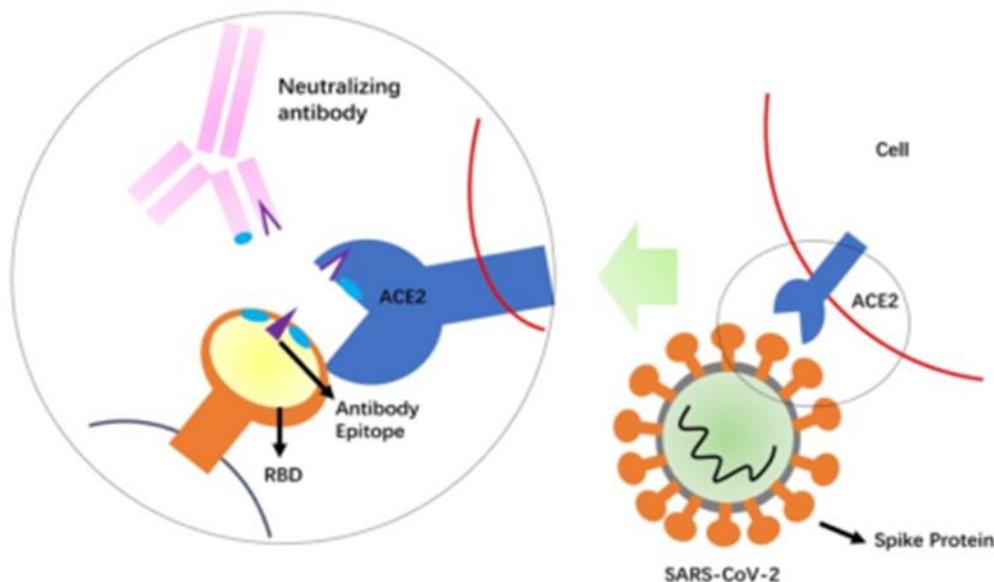
estabelecidos para isolar os anticorpos monoclonais SARS-CoV-2 (ZHOU et al., 2020). Ku et al. (2020) através de Xiong et al. E Wu et al. (2020) descreve diferentes formas de isolar e identificar o anticorpos monoclonais para o SARS, seja isolando vários anticorpos neutralizantes de camundongos imunizados com receptores-obrigatórios para SARS-CoV-2 usando a tecnologia de *hibridoma* ou através da seleção de uma biblioteca de anticorpos de domínio único. Uma vez que um painel de anticorpos monoclonais é gerado, os ensaios bioquímicos, como ligação ELISA, ligação baseada em células, medição de afinidade e mapeamento e categorização de epítomos, são comumente usados para caracterizar os anticorpos (FOCOSI et al., 2020; KU et al.,2020).

Os candidatos a anticorpos são então avaliados quanto às suas atividades de neutralização em ensaios baseados em células *in vitro* e em modelos animais *in vivo*. Como exemplo, do anticorpo monoclonal, um mAb SARS-CoV (47D11) gerado a partir de um *hibridoma* de camundongos humanizados neutralizou o SARS-CoV com um IC₅₀ de 0,19 µg / ml e mesmo se ligando ao receptor-obrigatório de ambos os vírus, ele não conseguiu bloquear a ligação ao ACE2, sugerindo a presença de um epítomo amplamente neutralizante que não está diretamente envolvido na ligação ao receptor. (KU et al.,2020)

Os anticorpos que se ligam à proteína spike com alta afinidade, podem ser testados primeiro quanto à sua capacidade de bloquear a interação spike com ACE2, como na figura 6, ou testados diretamente em ensaios de neutralização viral baseados em células *in vitro*, em uma situação de recursos limitados, ELISA IgG pode ser um substituto para os testes de neutralização. O sistema de ensaio *in vitro* comumente usados para avaliar a atividade de neutralização de anticorpos contra o coronavírus é baseado na infecção por vírus vivo da linha de células Vero E6.

O Vero E6 é o padrão ouro do ensaio de neutralização *in vitro*, em resumo, quando ocorre a infecção por SARS-CoV-2, as células podem apresentar efeitos citopáticos (CPE), que podem ser observados visualmente ou formar placas virais que podem ser detectadas por coloração imunofluorescência. No entanto, este sistema de ensaio é restrito, pois precisa ser realizado em instalações de nível de biossegurança 3 (BSL-3) (ALZOUGHLOOL et al.,2020; KU et al., 2020).

Figura 6 - Esquema de funcionamento do mecanismo de competição entre a proteína spike na superfície do SARS-CoV-2, como o anticorpo neutralizante, pelo domínio de ligação com receptor (ACE2). A parte violeta em forma de V é o local de ligação do receptor (ACE2) quanto o epítipo do anticorpo.



Fonte:
Zhou
et al.
(2020).

F

E

m
um
estu
do
rece
nte,

foi identificado que o anticorpo monoclonal (CR3022) se liga ao RBD da proteína spike do SARS-CoV-2. Isto ocorre, provavelmente, pelo fato que o epítipo do anticorpo não se sobrepõe ao sítio de ligação do receptor ACE2. CR3022 tem potencial para ser desenvolvido como um candidato terapêutico, porém sozinho não consegue uma atividade efetiva, tendo a necessidade de outro anticorpo, como o CR3014 ou com outros anticorpos neutralizantes durante a plasmaterapia na prevenção e tratamento da infecção por COVID-19. Por outro lado, alguns estudos, mostram que embora a combinação de vários anticorpos neutralizantes potentes, diminuam a probabilidade de escape, de alguns vírus isolado, pode também haver a diminuição da sensibilidade à neutralização. (ZHOU et al., 2020; SHEREEN et al., 2020).

4.8 Regulamentações do Procedimento

Embora o uso do plasma convalescente ainda não tenha comprovada eficácia no combate ao COVID-19 e os ensaios clínicos publicados não são controlados e com poucos pacientes, o plasma convalescente tem sido usado com compaixão e responsabilidade nesta pandemia, por isso o governo dos Estados Unidos por meio de um programa de acesso expandido, divulgou diversos testes clínicos administrado pelo COVID-19 Convalescent Plasma Project (CCPP19.org). Segundo o Ministério da Saúde do Brasil, através da ANVISA (NT 19º/2020), o Brasil considera os hemocomponentes, que são produtos oriundos do sangue

total ou do plasma, obtidos por meio de processamento físico, como produtos biológicos, e passivos de eficácia clínica e segurança comprovadas, além da qualidade garantida pela adoção dos requerimentos de Boas Práticas no Ciclo do Sangue.

A ANVISA alerta que não existem estudos conclusivos acerca do uso do plasma convalescente, e que qualquer procedimento deverá ter sua eficácia aprovada pelo Conselho Federal de Medicina (CFM) ou Ministério da Saúde, em situações específicas onde sejam consideradas emergências públicas, gravidade da doença ou risco de vida do paciente, sob responsabilidade do médico pesquisador, do esclarecimento do paciente ou dos familiares, em casos onde o paciente não responde por si (ANVISA, NT 19º/2020).

A ANVISA (NT 19º/2020), também informa que, os pesquisadores ou equipes médicas devem entrar em contato com os serviços de hemoterapia para formalizar possíveis parcerias para obtenção de plasma convalescente, de acordo com os protocolos de pesquisa ou protocolos clínicos em desenvolvimento, seguindo rigorosamente os critérios técnicos aplicáveis a doação, processamento, armazenamento e transfusão o de sangue, executados em serviços de hemoterapia, conforme o Ministério da Saúde. Ressalta-se que as transfusões de plasma são geralmente seguras e bem toleradas pela maioria dos pacientes, desde que seguidos os requisitos técnicos e sanitários para produção e uso dos hemocomponentes. Assim como a FDA (Food and Drug Administration), a ANVISA (Brasil) forneceu recomendações para doação de plasma convalescente, assim como no quadro 2 os doadores devem ter infecção documentada de SARS-CoV-2 através da sorologia ou RT-PCR, entre 14 e 28 dias ou mais sem sintomas, um novo teste de RT-PCR negativo e seguir todas as regras e orientações dos hemocentros de cada local (ANVISA NT 19º/2020; TIBERGHIEEN et al., 2020).

Recomendações	FDA	EU	ANVISA
Diagnóstico para COVID-19	Evidência de COVID-19 confirmada em teste laboratorial: - Swab nasofaríngeo no momento da doença ou - Teste sorológico positivo para anticorpos anti-SARS-CoV-2.	Um diagnóstico prévio de COVID-19 documentado por um RT-PCR positivo ou um teste positivo para anticorpos antiSARS-CoV-2, independentemente de o indivíduo apresentar sintomas ou não. Indivíduos que não foram testados, mas têm um histórico claro de sintomas de COVID-19 também podem doar.	Evidência de COVID-19 confirmada em teste laboratorial: - Swab nasofaríngeo no momento da doença ou - Teste sorológico positivo para anticorpos anti-SARS-CoV-2.
Tempo desde os últimos sintomas	Completa resolução dos sintomas com pelo menos 14 dias antes da doação	In general, 28 days should have passed since full recovery, or the end of preventive isolation, before donation proceeds.	Completa recuperação clínica no período de 15 a 30 dias
Critérios de testagem	Um resultado negativo para covid-19 por um teste diagnóstico não é necessário para qualificar o doador	evidência laboratorial de eliminação de RNA viral do trato respiratório superior (RT-PCR negativo); ou teste sorológico positivo para anticorpos anti-SARS-CoV-2 em doadores que nunca desenvolveram sintomas e nunca tiveram resultado negativo do teste RT-PCR.	Swab nasofaríngeo (RT-PCR negativo); ou teste sorológico positivo para anticorpos anti-SARS-CoV-2 em doadores que nunca desenvolveram sintomas e nunca tiveram resultado negativo do teste RT-PCR
HLA Testagem	Doadores do sexo masculino e doadores do sexo feminino que não estejam grávidas, precisam dos anticorpos anti-HLA	Doadores sem histórico de transfusão de sangue e doadoras que nunca estiveram grávidas ou que foram testadas e deram resultados negativos para anticorpos anti-HLA por meio de um ensaio validado.	Doadores do sexo masculino e doadores do sexo feminino que não estejam grávidas, precisam dos anticorpos anti-HLA
Títulos de anticorpos	Títulos de anticorpos neutralizantes SARS-CoV-2, se disponíveis. Quando a medição estiver disponível, recomendamos a neutralização de títulos de anticorpos de pelo menos 160. Um título	O FDA propõe um limite de 1: 160, mas observa que 1:80 também pode ser aceitável. Quando a titulação de anticorpos neutralizantes ainda não estiver disponível, o plasma pode ser coletado e congelado até a liberação para	Segue os padrões da FDA e EU.

	<p>de 80 pode ser considerado aceitável se uma unidade compatível alternativa não estiver disponível.</p> <p>Quando a medição não estiver disponível, considere armazenar uma amostra de retenção da doação de plasma convalescente para determinar os títulos de anticorpos em uma data posterior.</p>	<p>uso, uma vez que o teste tenha sido realizado em uma amostra arquivada e o resultado esteja disponível.</p> <p>Quando os anticorpos não são detectados no plasma coletado, ele não pode ser considerado para fins terapêuticos do COVID-19 e deve ser disponibilizado para outros usos padrão</p>	
--	---	--	--

Fonte: EU programme of COVID-19, ANVISA/MS NT 13º, 19º e 21º, FDA.

Utilizando como referência situações anteriores que esta modalidade de imunização passiva foi utilizada experimentalmente (epidemias Ebola, SARS e MERS) e mesmo considerando o fato de que as evidências clínicas, até o presente momento, não são muito fortes e sua segurança está pouco consolidada acerca do uso do plasma convalescente em pacientes com COVID-19, o Ministério da Saúde e a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), em nota técnica (NT 21º/2020) autorizaram no Brasil a pesquisa clínica com plasma de paciente convalescente. Segundo alguns critérios premeditadamente discutidos, a doação por aférese poderá ser feita em situações especiais, com o objetivo de suprir a necessidade transfusional de determinados pacientes. Essas doações não podem comprometer, a integridades dos doadores, nem dos profissionais de saúde que trabalham na hemoterapia, além do mais, esse serviço não pode comprometer a assistência hospitalar nem do hemocentro durante a pandemia.

As coletas devem ser realizadas juntamente no serviço de hemoterapia, em um ambiente isolado das demais coletas de sangue, evitando cruzamento de fluxo e possível contaminação dos doadores e profissionais, de forma regularizada junto a ANVISA, cumprindo os requisitos técnicos e regulatórios definidos pela Resolução da Diretoria Colegiada da Anvisa - RDC 34, de 11 de junho de 2014 e Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017. Além de cumprir com os requisitos regulatórios, precisa cumprir os requisitos técnicos, como coleta, processamento, armazenamento e transfusão de sangue, ressaltando principalmente a triagem clínica e laboratorial de forma correta, aos testes pré-transfusional e a transfusão. Tudo isso visando a segurança de todos que estiverem no processo da pesquisa, sendo observadas ainda todas as medidas de biossegurança recomendadas pelas autoridades de saúde.

Eles explicaram a consideração em evidências na literatura científica recente, que demonstraram que existe uma permanência de RT-PCR positivo para o vírus SARS-CoV-2 em Swab nasal mesmo após 14 dias da completa recuperação e que a presença de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2 permanece mesmo após 30 dias. Por isso os candidatos que se dispuseram a doação de plasma, após diagnóstico clínico e/ou laboratorial, só podem realizar a doação, após o período de 30 dias, com a completa recuperação (assintomático e sem sequelas que o contraindiquem no processo). Após a coleta a bolsa de plasma precisa estar rotulada e diferenciada das demais bolsas no serviço de hemoterapia, em armazenamento de forma segregada e com alerta para uso exclusivo em situação experimental.

Se tratando de um procedimento de valor experimental, tudo precisa atender as diretrizes que regulamentam as pesquisas clínicas que envolvem seres humanos. Sendo ainda considerado, uma situação de emergência em Saúde Pública de importância nacional declarada pela Ministério da Saúde devido a infecção pelo novo Coronavírus, sendo que o médico prescrito da terapia experimental deverá seguir as normas éticas do Conselho Federal de Medicina. Recomenda-se também a formalização entre os pesquisadores e os estabelecimentos onde será realizado a pesquisa, de maneira que o hemocentro possa se organizar para atender a demanda estabelecida.

Morabito et al. (2020) descreve um relatório clínico de pacientes enfermos na China, dez pacientes receberam 200 ml de plasma com títulos de pelo menos 1:640 (recomendados pela FDA), além de tratamento de suporte com antivirais, havendo melhora significativa nos sinais e sintomas em pacientes criticamente enfermos, reduzindo também a quantidade do RNA viral, diminuição das lesões pulmonares, além da redução da mortalidade do paciente em comparação com um grupo de controle que possuía um histórico semelhante ao outro grupo. O valor do nível normal médio de IgG em 200 ml de plasma, foi equivalente a aproximadamente 2g de IgG ou 0,03g/kg em adultos de 70 kg, sendo importante ressaltar que nenhum evento adverso ocorreu nos pacientes transfusionados (CAO et al., 2020; MORABITO et al, 2020; KU et al., 2020).

4.9 Atualizações sobre o método

As últimas décadas trouxeram novas tecnologias que se desenvolveram para purificar e fabricar imunoglobulinas (IG) derivadas do plasma humanos como forma de terapias medicamentosas, ou chamadas de formulações de globulina hiperimune (H-IG), que tem sido usada de como a segunda linha de imunoterapias passivas contra diversas doenças virais. Os

HIGs são medicamentos derivados de plasma convalescente, com títulos conhecidos de anticorpos neutralizantes, contra agentes infecciosos específicos (MORABITO et al., 2020).

As imunoglobulinas hiperimune (H-IGs) são produzidas seguindo o processo de produção de IG, por meio do fracionamento, onde ocorre uma mistura purificada de IgGs, uma mistura de IgG humano, nesse caso, de acordo com as proporções dos pacientes convalescentes do COVID-19. Ao final, o produto terá um conjunto diversificado de anticorpos policlonais contra o SARS-CoV-2, com um título de neutralização medido de forma padronizada, com uma concentração precisa de IgG (solução a 10% é o mais comum) antes de ser liberado para aplicação. Sendo um medicamento, o H-IG precisa ser regulamentado pelas autoridades de saúde e produzidos em empresas biofarmacêuticas que possuam infraestrutura específica para produzir terapias derivadas de plasma, assim como várias empresas anunciaram os programas de produção de H-IG (MORABITO et al., 2020).

Quando coletado e processado, o plasma fabricado para H-IG, é submetido a uma sequência de etapas que podem levar até alguns meses: etapas como fracionamento, purificação, incubação, teste de liberação, acabamento e embalagem. Este processo é que garante a pureza, segurança e títulos adequados de anticorpos neutralizantes antes da liberação para seu uso clínico. O processo de fabricação dos H-IGs pode ser feito em escala comercial, seguindo o processo descrito, chegando até o processamento de até 20.000 l de plasma, embora a dose clínica seja definida em ensaios clínicos, os títulos de neutralização *in vitro* do produto acabado informarão a seleção da dose. Até o momento, nenhum ensaio clínico de alta qualidade demonstrou eficácia e segurança convincentes do H-IG em epidemias de coronavírus. Havendo a necessidade de ensaios clínicos randomizados para estabelecer o equilíbrio risco-benefício desta intervenção para Covid-19. Os resultados dos ensaios de controle randomizados que investigaram o uso de H-IG sugerem alguma eficácia clínica, que pode estar relacionada a títulos uniformemente elevados de anticorpos antivirais nas preparações farmacêuticas. Portanto, pode haver mérito em concentrar esforços futuros em H-IG ou em formulações concentradas de anticorpos antivirais. (SULLIVAN et al., 2020; MORABITO et al., 2020).

A segurança e a eficácia do procedimento são essenciais, embora os estudos que envolvem o plasma convalescente no COVID-19 ainda são mal controlados. Por isso um ensaio randomizado, avaliando a segurança e a eficácia antecipadamente, poderia ser a abordagem mais científica e sólida no processo de tratamento, configurando que esses testes em situações de pandemias/epidemias infecciosas agudas transitórias são um grande desafio. Os estudos de caso-controle são menos satisfatórios, porém ainda podem ser uma opção

razoável se os controles forem muito comparáveis com os fatores conhecidos e desconhecidos que possam impactar o final do estudo (SULLIVAN et al., 2020; TIBERGHIEEN et al., 2020).

Grande parte dos ensaios clínicos estão focados em pacientes graves e que incluem a morte como desfecho da pesquisa, ou a não necessidade do suporte de ventilação. Os desfechos secundários são mais variáveis como duração de hospitalização, necessidade de oxigenação, assim com impactos nos títulos de anticorpos pós-transfusão. A forte relação entre os desfechos primários é o que facilitará no desenvolvimento de comparações e meta-análises dos estudos. Parte das pesquisas clínicas estão destinadas ao uso do PC como medida profilática pós-exposição, com estudos randomizados e duplo cego, comparando a eficácia e a segurança do plasma anti-SARS-CoV-2 vs. Controle (plasma não imune) entre adultos que tiveram exposição por contato ao COVID-19, porém assintomáticos (ACCORSI et al., 2020; BARONE et al, 2020; BLOCH et al.,2020).

Os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos, descreve uma exposição como um contato próximo de aproximadamente 2 metros de um paciente com COVID-19 por um período prolongado sem o uso de equipamentos de proteção individual (EPIs). Disposto entre pessoas que convivem com pacientes, pacientes imunocomprometidos, idosos ou em profissionais de saúde que estão em contato direto. Sendo considerado seguro e eficaz, a profilaxia com PC pós-exposição oferece uma intervenção protetiva, protelando a progressão para doença crítica podendo evitar sobrecarga de recursos de cuidados intensivos ou internações hospitalares. Outros estudos avaliam o uso do plasma humanos convalescente em pacientes com quadros iniciais leves, moderados e graves que requerem uso de ventilação mecânica (ACCORSI et al., 2020; BARONE et al, 2020; BLOCH et al.,2020).

Relacionado as pesquisas sobre a terapia com plasma convalescente, o contexto não é tão amplo quando comparamos com outros métodos, principalmente em situações de crises ou surtos na saúde pública. No momento, existem vários ensaios clínicos em andamento que investigam o plasma convalescente em diversas configurações do Coronavírus, alguns desde o início da pandemia; como medida profilática pós exposição, no tratamento da doença sintomática em casos leve, moderados, severos com complicações respiratórias e pacientes com ventilação. Caso exista pacientes que não atendam os critérios clínicos para as pesquisas, o FDA nos Estados Unidos, por exemplo, aprovou protocolos para utilização do PC em emergência e acesso expandido de experimentação e pesquisa (BOECHAT et al., 2020).

No dia 26 de março de 2021 o presidente do Instituto Butantan, juntamente ao prefeito de duas cidades paulistas (São Paulo – Brasil), em publicação no site oficial do centro de pesquisa (butantan.gov.br), deram início ao projeto piloto de uso de plasma convalescente

aqui no Brasil em pacientes em estado de saúde leve, testados positivos para o COVID-19. Pessoas imunossuprimidas, com comorbidades e maiores de 60 anos, estão listadas como aptas para receber o tratamento segundo o instituto. O projeto piloto se destaca nessas duas cidades (Santos e Araraquara) devido a busca das suas autoridades pelo instituto no intuito de realizar o tratamento nos pacientes locais, como forma de escape da crise que alastrava nas cidades em casos agudos da COVID, com uma curva epidemiológica explosiva da variante P1 do novo coronavírus. Para isso, hemocentros com diversas unidades espalhadas pelo estado de São Paulo se tornaram pontos de coleta, armazenamento e distribuição do plasma hiperimune (convalescente).

As cidades pilotos montaram estruturas que avaliaram os impactos do plasma hiperimune em pacientes positivos, acompanhados pela equipe do Butantan. Desta forma, com a assertiva do projeto piloto é possível que este tratamento se amplie em outros municípios do estado. A partir do conhecimento dos estudos clínicos realizados no Brasil e no mundo com plasma convalescente, será possível obter as informações necessárias para aplicação da terapia, como exemplo, a aplicação do plasma se torna essencial em uso precoce nos pacientes, em específico nas primeiras 72h do surgimento dos sintomas em volumes específicos, não sendo eficaz em aplicação tardia, como em pacientes graves, segundo o protocolo Diretrizes para o Uso de Plasma Convalescente no Tratamento de Pacientes com Covid-19 (ABHH, 2021) que foi validado pela Associação Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. O plasma foi obtido por meio de doação voluntária de plasma por aférese ou de plasma por meio de doação de sangue total de pessoas que já foram contaminadas pelo novo coronavírus, tendo como requisito ter sido contaminada pela Covid-19 pelo menos 30 dias antes do ato da doação, estar em boas condições de saúde, ter entre 16 e 69 anos, pesar no mínimo 50 kg, evitar alimentação gordurosa antes da doação e apresentar documento original com foto. Gestantes e Parturientes estão proibidas de realizar a doação, por motivos já discutidos ao longo deste trabalho, sendo assim apenas mulheres nulíparas e homens estarão aptos para doação.

5. Materiais e Métodos

5.1 Desenho do estudo

O presente trabalho trata-se de um estudo de revisão sistemática e metanálise de ensaios clínicos randomizados, reportado conforme a recomendação PRISMA (Principais Itens para Relatar Revisões sistemáticas e Meta-análises) (MOHER *et al.*, 2010). O protocolo

das etapas de construção desta revisão sistemática foi publicado na International Prospective Register of Systematic Reviews (PROSPERO) sob registro CRD42020183221.

5.2 Buscas nas bases de dados

As buscas foram elaboradas, utilizando estratégias de busca com operadores booleanos nas seguintes bases de dados: MEDLINE (*Medical Literature Analysis and Retrieval System Online*), através do PubMed; EMBASE e *Science Direct*, utilizando termos indexados, palavras-chaves e sinônimos relacionados a coronavírus humano e plasma convalescente, e incluídos textos em português, inglês e espanhol. Outras fontes, foi considerada literatura cinzenta como parte do material de busca para revisão bibliográfica, como: Boletim Semanal da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), ReBEC (Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos), sites de organizações nacionais e internacionais como, Organização Pan Americana da Saúde (OPAS), Ministério da Saúde do Brasil (MS) e Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

No início de 2021, foi apresentado uma nova base de dados científicas e registros de ensaios clínicos, referentes as publicações e sobre o COVID-19, com sua relação com avanços de pesquisa, vacinas, diagnósticos e tratamentos suporte, sendo de extrema importância para o desenvolvimento da pesquisa, foi incluído uma base de registros de ensaios clínicos específicos sobre o COVID-19, chamado COVID-NMA, que é uma iniciativa internacional que trabalha em conjunto com a OMS, liderada por uma equipe de pesquisadores da *Clinical Trials (National Institutes of Health* – incluído o registro de estudo COVID-19 do Cochrane), Cochrane, *International Clinical Trials Registry Platform ICTR*P e de outras instituições ao redor do mundo, sendo feita a pesquisa de forma conjunta pelo repositório. Todos os outros dados encontrados nas outras bases de dados foram filtrados e caso fossem elegíveis a pesquisa, eram comparados com os dados do repositório e posteriormente eliminados por duplicidade ou inclusos por elegibilidade, sendo que a maioria dos estudos encontrados nas bases indexadas, já apresentavam registro no repositório do COVID-NMA.

5.3 Estratégia de busca

A coleta foi realizada entre dezembro de 2020 a abril de 2021, sendo o repositório NMA atualizado semanalmente desde o seu funcionamento (maio/2020), tendo uma atualização frequente de informações. Foi elegido abril um período consideravelmente razoável para processamento, sistematização e metanálise das informações dos ensaios clínicos que já tivessem sido concluídos/publicados em tempo suficiente de escrita e defesa da

dissertação. Foram utilizadas as palavras-chave e sinônimos de acordo com as bases de dados, utilizando os operadores booleanos “AND” e “OR” como mostra o quadro 3. A busca foi feita por meio das palavras encontradas nos títulos, assuntos e resumos dos artigos, limitados aos últimos 2 anos de pesquisa/publicação (Dez/2019 – Abr/2021).

Quadro 3 - Palavras-chave utilizadas na busca eletrônica acrescidas dos operadores booleanos “AND” e “OR” e a fontes de busca determinada.

Base de Dados	Estratégias de Busca	Número de títulos (antes da triagem)
Medline (via Pubmed)	<p>(((((("COVID-19" [Supplementary Concept] OR 2019 novel coronavirus infection [all fields] OR 2019-nCoV infection [all fields] OR COVID-19 pandemic [all fields] OR coronavirus disease-19[all fields] OR 2019-nCoV disease [all fields] OR COVID19[all fields] OR 2019 novel coronavirus disease [all fields] OR coronavirus disease 2019[all fields] OR "severe acute respiratory syndrome coronavirus 2" [Supplementary Concept] OR Wuhan coronavirus [all fields] OR Wuhan seafood market pneumonia vírus [all fields] OR COVID19 virus [all fields] OR COVID-19 virus [all fields] OR coronavirus disease 2019 virus [all fields] OR SARS-CoV-2[all fields] OR SARS2[all fields] OR 2019-nCoV [all fields] OR 2019 novel coronavirus [all fields])))) OR ("coronavirus"[mesh] OR cov [all fields] OR Coronavirus [all fields] OR "coronavirus infections"[mesh] OR human coronavirus [all fields] OR "coronavirus nl63, human"[mesh] OR "coronavirus oc43, human"[mesh] OR "coronavirus 229e, human"[mesh] OR covid-19[all fields] OR new coronavirus [all fields] OR 2019-ncov [all fields] OR novel coronavirus [all fields] OR betacoronavirus [all fields]))) AND ((("Plasma"[Mesh] OR Plasma [all fields] OR Plasmas [all fields] OR Blood Plasma [all fields] OR Blood Plasmas [all fields] OR Convalescent sera [all fields] OR Convalescent serum [all fields] OR convalescent plasma [all fields] OR Convalescent whole blood [all fields] OR Pooled human Immunoglobulin [all fields] AND ((clinical [Title/Abstract] AND trial [Title/Abstract]) OR clinical trials as topic [MeSH Terms] OR clinical trial [Publication Type] OR random*[Title/Abstract] OR random allocation [MeSH Terms] OR therapeutic use [MeSH Subheading])))</p>	7.659 títulos
EMBASE	(coronavirus OR covid-19 OR 2019-nCov) (convalescent plasma)	24
Science Direct	(covid-19 OR 2019-nCov) AND (convalescent	350

5.4 Critérios de Elegibilidade do Estudo

Foram incluídos na pesquisa apenas ensaios clínicos randomizados que avaliaram o uso do plasma convalescente (PC) em indivíduos com diagnóstico de COVID-19 (confirmado pelo PCR), em qualquer estado clínico associado ou não a outro tipo de tratamento farmacológico em braço controlado. Foram considerados os ensaios clínicos randomizados (concluídos ou em andamento, com conclusão até final de maio/2021, com informações suficientes para uso dos preprints), que apresentassem os Riscos Relativos (RR) ou Média e Desvio Padrão e seus correspondentes Intervalos de Confiança (IC), além do número total de pacientes, para resultados contínuos ou dados suficientes para calcular esses parâmetros, para ser feito a metanálise. E para resultados dicotômicos, registrar o número de eventos e o número total de participantes em ambos os grupos de tratamento e controle, em relação a aplicação do plasma convalescente, levou em consideração tanto aplicação de dose única, quanto de mais de uma dose, no estudo como todo.

Foram excluídos os estudos que não apresentaram características importantes da amostra como idade, sexo e gravidade da doença, comorbidades associadas, ensaios com lactantes ou pediátricos; artigos que não apresentaram informações relevantes sobre o tratamento (ex.: Quantidade de plasma utilizado, tempo entre cada transfusão, uso de medicamentos em tratamento paralelo).

Para os critérios de inclusão de cada paciente, estavam entre: pacientes hospitalizados com idade ≥ 18 (com idade média de 55 a 65 anos em todos os estudos) com evidência de infecção por SARS-CoV-2 por reação em cadeia da polimerase (PCR) de amostra de swab nasofaríngeo, orofaríngeo ou aspirado traqueal dentro de 14 dias antes do início da randomização, com infiltração torácica confirmados por exame de imagem e saturação de oxigênio ≤ 94 % de ar ambiente ou necessidade de oxigênio suplementar (incluindo ventilação não invasiva ou oxigênio suplementar de alto fluxo).

5.5 Desfecho e Extração de Dados

A elaboração desta pesquisa foi estruturada a partir de desfechos clínicos conforme relatados pelos estudos incluídos, tais como, desfecho primário: diminuição do risco mortalidade relacionada à infecção por COVID-19 e desfechos secundários: cura ou melhora

dos sintomas clínicos e a diminuição do tempo de internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e ou qualquer outra causa, além de relatos do surgimento de efeitos adversos.

5.6 Seleção de dados

A primeira parte do processo de seleção, entre dezembro/2020 a março/2021, foi feita em 4 etapas, a primeira com busca ativa com os operadores booleanos nas bases de dados, a segunda etapa, como critério de eliminação, seria leitura do título dos artigos/trabalhos que não estivessem relação com o tema da pesquisa, logo não seguiram para leitura do resumo (ex.: títulos que apresentassem medicamentos como braço experimental unicamente ou utilizasse outras substâncias que não fossem o plasma convalescente, além de estarem fora do escopo de elegibilidade do trabalho, através de palavras chaves não relacionadas), após a seleção, a terceira etapa como critério de eliminação, foi a leitura dos resumos dos pré-selecionados e eliminação dos que não estivessem dentro dos critérios de elegibilidade e desfechos. Na segunda parte, foi feita a avaliação do texto na íntegra dos estudos pré-selecionados para confirmação da elegibilidade, seguido da extração de dados dos artigos, como no quadro 5 e da identificação dos aspectos metodológicos, sendo realizado por dois revisores independentes. Quando havia discordância entre eles, os revisores liam novamente o artigo para reavaliação. Se a divergência persistisse, um terceiro revisor independente avaliava e tomava a decisão final.

Os 4 artigos foram lidos de forma analítica e seletiva e organizados em uma tabela com informações relevantes das pesquisas, como as características - autor, ano e país; amostra; desfechos e resultados, como mostra o quadro 5.

Os seguintes dados foram extraídos;

Quadro 5 – Dados extraídos dos estudos clínicos segundo as informações utilizadas na pesquisa.

Informações Gerais	Autor, país, ano.
Característica/Amostra	Desenho do estudo, número de participantes, e intervenção;
Desfechos do estudo	Efetividade: - Melhora dos sintomas clínicos em 28 dias pós-transfusão - Tempo médio de hospitalização pós-

	transfusão (UTI) - Risco de mortalidade (por qualquer causa) Segurança: - Eventos Adversos (Nº de participantes que apresentem grau 3 e 4 de eventos adversos ou reações agudas de transfusão)
Resultado	Finalização da pesquisa

Fonte: Autor

5.7 Análise Estatística

Foi realizada a análise de acordo com os desfechos estudados: melhora dos sintomas clínicos (em 28 dias), tempo de hospitalização pós-transfusão e mortalidade. Para os desfechos mortalidade e exacerbações foi utilizado modelo de efeito randômico e para o desfecho gravidade da doença foi utilizado média e desvio padrão. Os dados foram exibidos graficamente usando *forest plot*, que é “uma exibição gráfica de resultados estimados de uma quantidade de estudos científicos sobre a mesma questão, junto com os resultados gerais. Um p valor inferior a 0,05 foi considerado estatisticamente significante” (ABDUL et al., 2008).

A heterogeneidade estatística entre os estudos foi avaliada pelo Teste de Inconsistência I2. Os seguintes pontos de corte foram adotados: 0% a 25% - heterogeneidade leve, aceitável; 25% a 50% - heterogeneidade moderada; > 50% heterogeneidade alta (HIGGINS et al., 2011). A análise de sensibilidade foi avaliada reanalisando os dados utilizando uma variação razoável dos resultados dos estudos, onde havia alguma incerteza sobre os resultados, examinando a influência individual de cada estudo.

Foram geradas tabelas de risco de viés, para avaliar o viés de publicação. As análises foram realizadas no programa Review Manager Versão 5.3 (RevMan 5.3) que é Software colaborativo da Cochrane para preparar e manter suas próprias revisões, além de facilitar a preparação de protocolos e a revisão completa, incluindo texto, características dos estudos, comparação de tabelas e estudo de dados (NORDIC COCHRANE CENTRE, 2014).

5.8 Risco de Viés

Foi usada a ferramenta *Review Manager 5.3* para analisar o risco de viés nos resultados dos ensaios clínicos. Avaliamos os seguintes tipos de viés, conforme descrito no Capítulo 8 do *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions* (HIGGINS, 2011). Viés decorrente do processo de randomização; Viés devido a desvios das intervenções

pretendidas; Viés devido à falta de dados de resultado; Viés na medição do resultado e Viés na seleção do resultado relatado.

6. Resultados

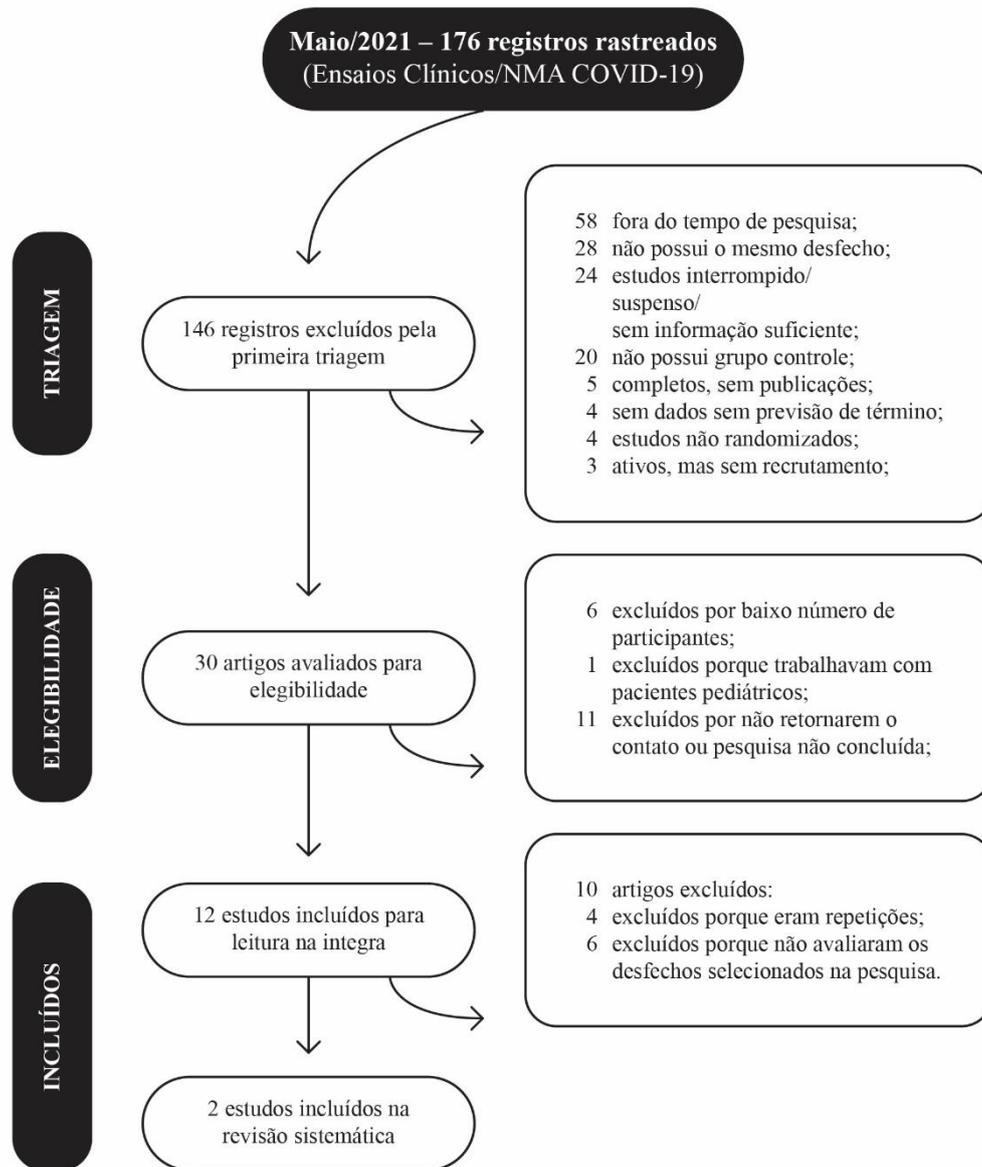
6.1 Seleção dos Estudos

Em 29 de maio de 2021, a iniciativa NMA COVID-19, havia registrado 2.910 ensaios clínicos com ênfase no tratamento do novo coronavírus, desse total, 176 ensaios em todo o globo, estavam relacionados ao uso do plasma convalescente como forma de tratamento, com maior frequência entre abril e junho de 2020 a maioria sendo realizada nos Estados Unidos.

O status da maioria dos ensaios eram: 58 ensaios fora do tempo de pesquisa/defesa da dissertação (maior parte dos estudos com média de término em Dez/2021); 28 ensaios que não possui o mesmo desfecho (ex.: saída da oxigenação, saída da ventilação mecânica, limitação das atividades sem oxigenação, tempo de intubação ou apenas avaliação bioquímica/carga viral); 24 estudos interrompidos/suspensos/sem informação suficiente da base de registro ou dos autores; 20 estudos que não possuem grupo controle/atribuição de grupo único; 5 estudos completos sem publicações (ou preprints); 4 estudos em andamento, mas sem dados publicados (preprints) e sem previsão de término; 4 estudos não-randomizados (retrospectivos) e 3 estudos ativos, mas sem recrutamento.

Após a exclusão de 146 trabalhos, totalizou 30 no qual foram submetidas a uma busca ativa pelo material escrito, que seria o resultado da pesquisa (sendo preprint ou o trabalho já escrito), que por cadastro nas plataformas de registro de ensaios clínicos, todas já haviam sido terminadas. Como resultados finais da busca, 1 ensaio eliminado por critério de exclusão que apresentavam pacientes pediátricos, e 17 autores que aparentemente estavam com seus ensaios clínicos incluídos no critérios da pesquisa, foram contactados por meio de correio eletrônico (e-mail) cadastrados no site de registro do ensaio e/ou pelo site Research Gate, por não ter sido encontrados material escrito nas bases de dados indexadas, por isso o contato foi feito para uma possível liberação do material ou preprint para fins acadêmicos, dos contactados, de 13 autores não foi obtida nenhuma resposta, 4 autores responderam que ainda estavam em processo de desenvolvimento/escrita e apenas 1 liberou o preprint do seu trabalho, pela plataforma Research Gate. Resultando em apenas 12 trabalhos escritos encontrados e seguidos para leitura na íntegra, resultando na exclusão de 10 artigos por estarem repetidos ou não possuírem os desfechos selecionados pela metodologia, seguindo apenas com 2 artigos selecionados, como mostra o fluxograma a seguir na figura 7.

Figura 7 - Diagrama de fluxo da pesquisa nas bases de dados NMA COVID-19.



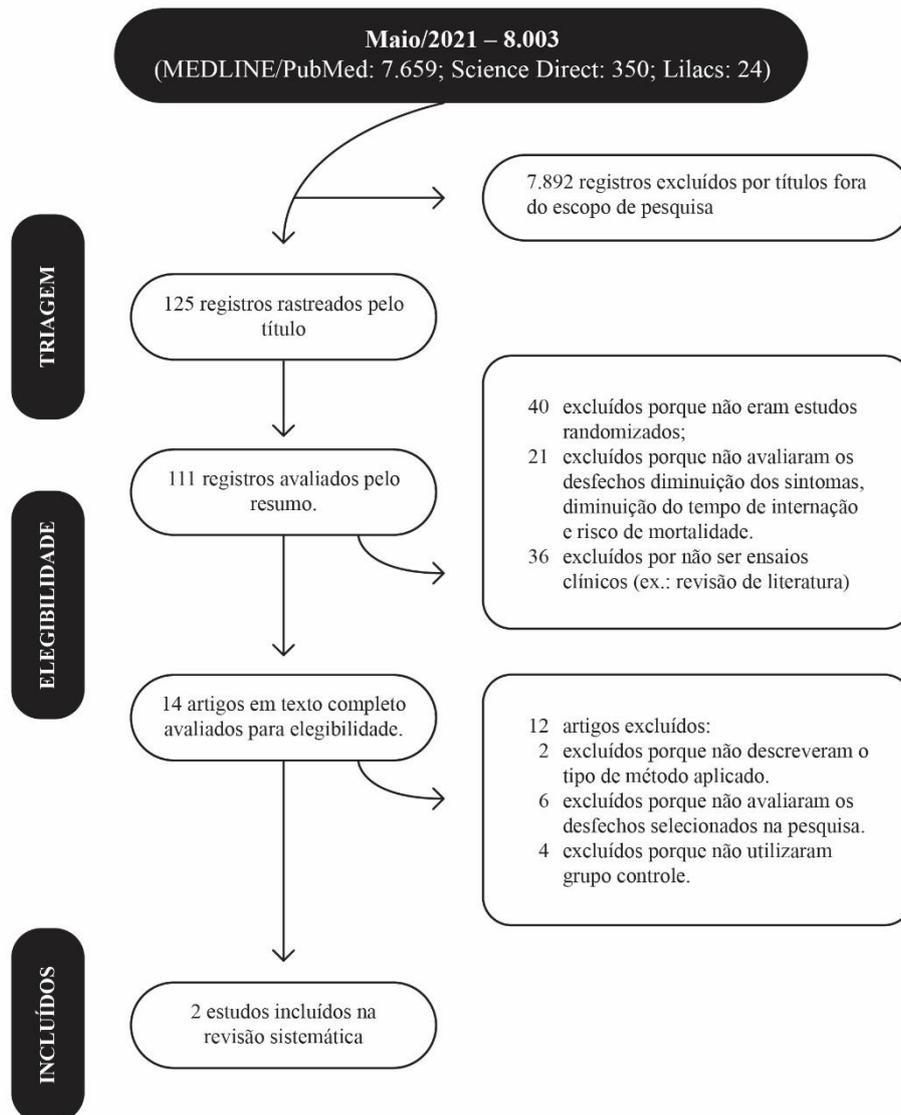
Fonte: Elaboração do Autor.

As pesquisas que estavam completas e ainda não publicadas, foram buscadas por meio do medRxiv, um repositório de arquivo online de distribuição gratuita de manuscritos completos, mas não publicados (preprints) relacionados as áreas de ciências médicas, clínicas e ciências da saúde, caso não encontrado seria necessário a tentativa de com os autores para acesso ao preprint das pesquisas.

A pesquisa nas bases de dados, em abril/maio de 2021, resultou em 8.003 artigos antes do processo de triagem ao total por busca ativa, após as 2 primeiras etapas do processo de

triagem (rastreamento de título e leitura do resumo), ficaram 14 registros após o seguimento das 4 etapas. Destes, verificou-se que 10 deles não cumpriam todos os critérios de inclusão, resultando na seleção final de 4 artigos, conforme demonstra o fluxograma a seguir (figura 8).

Figura 8 - Diagrama de fluxo da pesquisa nas bases de dados indexadas.



Fonte: Elaboração do autor

Foi de saber nosso, que este trabalho teve como precursor um estudo da Cochrane de KL, Chai et al., 2020 chamado “Convalescent plasma or hyperimmune immunoglobulin for people with COVID-19: a living systematic review (review)”. A diferença com a nossa pesquisa, é que na publicação do Cochrane, os autores trabalharam com ensaios controlados

não randomizados, não controlados e não randomizados ou quasi-randomizados, além de ensaios clínicos randomizados duplo-cegos, em nosso caso trabalhamos apenas com controlados randomizados duplo cego, como forma de afunilar os resultados e tentar diminuir os riscos de viés, ao final da pesquisa, Chai *et al.*, 2020, afirma que a efetividade do plasma convalescente é incerta diante da progressão da doença que seria o COVID-19, apesar de ser uma pesquisa continua para época ele determinaram que havia muitas informações limitantes e a falta de material foi o que cooperou no final dos resultados.

6.2 Características dos estudos

Nas 4 pesquisas participaram 12.217 indivíduos. Todos os autores (HORBY *et al.*, 2020; SIMONOVICH *et al.*, 2020; O'DONNELL *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020), associaram ao desfecho primário, melhora dos sintomas clínicos em 28 dias (com progressões de 7 e 14 dias) e a mortalidade, além da diminuição do tempo. Os ensaios foram realizados nos respectivos países: Inglaterra, Argentina, Estados Unidos/ Brasil e China, respectivamente.

Para os pesquisadores os dados iniciais dos pacientes internados, foram coletados usando um formulário de relatório de caso que incluía dados demográficos do paciente, nível de suporte respiratório, principais comorbidades, adequação do tratamento do estudo para cada caso específico e disponibilidade de tratamento no local do estudo.

Todos os autores relataram, o uso de outros tratamentos, incluindo corticosteroides, agentes antivirais, imunossupressores, anticoagulantes, estatinas, sendo que o uso ficou a critério dos médicos a frente das pesquisas de cada ensaio, e os cuidados de suporte (incluindo placebo) foram fornecidos de acordo com os padrões de cada centro/hospital de pesquisa.

O tipo de plasma convalescente transfundido era compatível com o tipo ABO do paciente. Os pacientes doadores tiveram uma amostra de soro colhida antes da atribuição aleatória com o objetivo de avaliar a presença de anticorpos contra SARS-CoV-2 nos locais de estudo, 90% dos pacientes doadores totais, possuíam um título mínimo de anticorpos IgG totais anti-SARS-CoV-2, com média de $\geq 1:400$ analisado por ensaio imunoenzimático quantitativo contra a proteína Spike (proteína S), os pacientes deveriam estar pelo menos 14 dias assintomáticos após a resolução de COVID-19 e tiveram um teste de PCR negativo para SARS-CoV-2 de um cotonete nasofaríngeo.

Apenas para Simonovich *et al.* (2020), o título total de anticorpos no plasma convalescente estava acima de 1: 800, em todos os outros caso a média variou de 1:100 a 1:640. Assim como o recebimento do plasma, para O'Donnell *et al.* e Li *et al.* (2020) os

participantes randomizados receberam de tratamento, uma única unidade de plasma com valores entre (200-250 mililitros, para Simonovich *et al.* (2020) a dose única foi de 500ml e o único estudo que os pacientes receberam mais de uma dose, foi o Horby *et al.* (2020), onde os pacientes no grupo de plasma convalescente receberam duas unidades (275 ml –350 ml) por via intravenosa, a primeira o mais rápido possível após a randomização e a segunda foi transfundida durante aproximadamente 2 horas, após a primeira.

O título de neutralização foi determinado com um ensaio de neutralização viral SARS-CoV-2 que mediu a inibição do crescimento do vírus após a exposição a diluições de plasma em série usando transcrição reversa em tempo real quantitativa-PCR (qRT-PCR), os maiores detalhes estão descritos nos protocolos dos ensaios. O'Donnell *et al.* (2020) relata uma preocupação com as variantes virais emergentes, por isso foi o único autor que realizou o sequenciamento genômico do SARS-CoV-2 em amostras de swab nasofaríngeo de um subconjunto de pacientes matriculados no Brasil, já que o ensaio foi realizado em 2 países simultaneamente. As sequências foram mapeadas para o genoma de referência SARS-CoV-2 (sequência NC_045512) no *National Center for Biotechnology Information* (NCBI).

No desfecho de melhora clínica ou diminuição dos sintomas, após 30 dias de randomização, a melhora foi medida usando uma escala ordinal com base na escala de sintomas clínicos recomendados pela Organização Mundial da Saúde (WHO, 2020):

1. não hospitalizado com retomada das atividades normais;
2. não hospitalizado, mas incapaz de retomar atividades normais;
3. hospitalizado, sem necessidade de oxigênio suplementar;
4. hospitalizado, exigindo oxigênio suplementar;
5. hospitalizado, exigindo terapia de oxigênio de alto fluxo ou não invasivo ventilação mecânica;
6. hospitalizado, necessitando de ECMO, IMV ou ambos;
7. morte.

Após a intervenção experimental, os pacientes foram acompanhados pessoalmente durante a admissão hospitalar e por telefone após a alta hospitalar em todos os ensaios.

7.Discussão

Os resultados da presente revisão sistemática e metanálise sugerem que o plasma convalescente não provoca efeitos negativos nos desfechos mortalidade e garante estabilidade durante o tempo de internação, porém não apresenta diferenças no tempo de internação nem na melhoria dos sintomas clínicos. (Simonovich *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2020 e Horby *et al.*,

2020) em comparação com os resultados de indivíduos que não utilizaram. Quanto o O'Donnell et al., 2020, percebeu diferença no uso do plasma convalescente na melhora dos sintomas em 28 dias e na diminuição do risco de mortalidade em pacientes com COVID-19 em estado grave.

Como o plasma convalescente pode ter outros fatores imunomoduladores além dos anticorpos anti-SARS-CoV-2, como imunoglobulinas, proteínas hemostáticas e citocinas, nos testes que houve o uso de plasma normal como um comparador permitiu avaliar o efeito dos anticorpos convalescentes enquanto controlavam esses outros fatores. Embora o uso de terapia usual fosse permitido em ambos os grupos, não foi padronizado entre os sites participantes. No entanto, Dexametasona ou outros glicocorticoides foram fortemente usados em ambos os grupos de ensaio. No entanto, nenhuma sugestão de interação entre plasma convalescente e terapias concomitantes foi encontrada.

Em relação aos riscos de viés dos estudos apresentamos 2 gráficos:

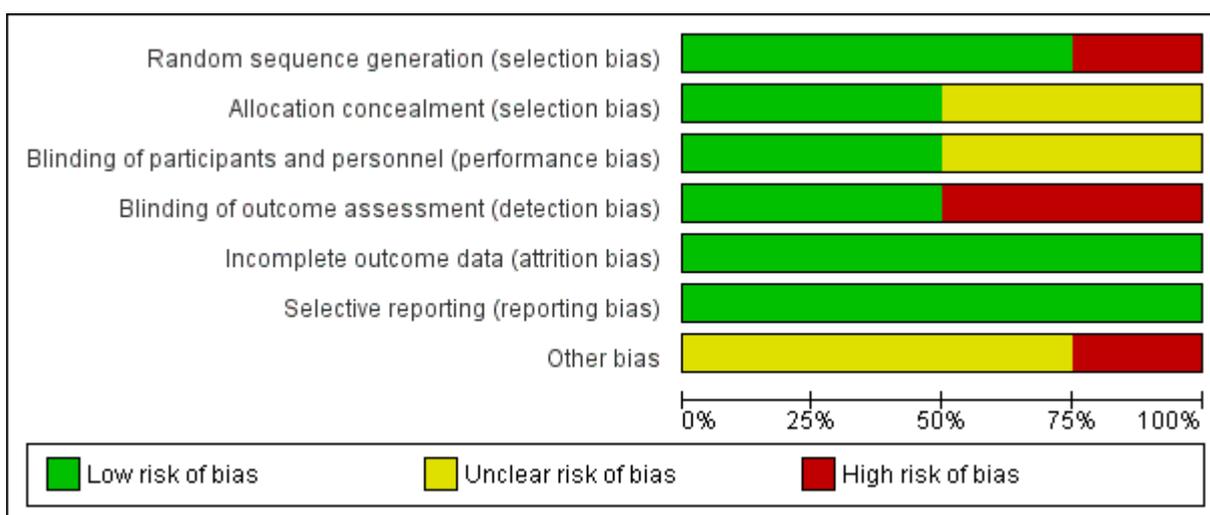


Figura 9 – Gráfico de viés dos estudos de acordo com cada apontamento de risco.

Em reação ao primeiro viés, Li et al., 2020, atribuiu ao grupo de plasma convalescente ou ao grupo de controle em uma proporção de 1: 1 e foram categorizados da seguinte forma: 23 pacientes no grupo de plasma convalescente e 22 pacientes no grupo de controle tiveram COVID-19 grave e 29 pacientes no grupo de plasma convalescente e 29 pacientes no grupo de controle apresentavam COVID-19 com risco de vida, não havendo designação aleatória dos pacientes nem ocultação da alocação, como foi feito com os outros autores.

Para Horby et al., 2020, O banco de sangue do hospital em cada local e as equipes de pesquisa clínica que preencheram os formulários de registro de casos e realizaram outros procedimentos específicos do estudo não foram ocultados, aumento o risco de viés de

cegamento dos avaliadores dos desfechos. E para Li et al., 2020, este foi um estudo aberto e o resultado primário foi baseado, até certo ponto, nas decisões de gerenciamento clínico dos médicos.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Horby et al., 2020	+	?	+	-	+	+	?
Li, L. et al., 2020	-	+	?	-	+	+	-
O'Donnell, M. R. et al., 2020	+	+	?	+	+	+	?
Simonovich et al., 2020	+	?	+	+	+	+	?

Figura 10 – Gráfico de viés dos estudos de acordo com cada autor e ensaio.

Em relação ao risco de viés, os 4 estudos foram examinados em diferentes níveis de exposições ao plasma convalescente, e as medidas de exposição e de resultados foram claramente definidos, válidas e implementadas de forma consistente, como mostra nas figuras 9 e 10, onde os gráficos de viés, de acordo com cada apontamento de risco e o viés de estudo de cada autor de ensaio. Li, L et al., 2020, apresentou os maiores riscos de viés nos seus estudos, sendo que o uso da terapia padrão, foi permitido em ambos os grupos e não foi protocolizado, o que poderia ter potencialmente influenciado os resultados.

Quadro 6 – Características dos artigos selecionados.

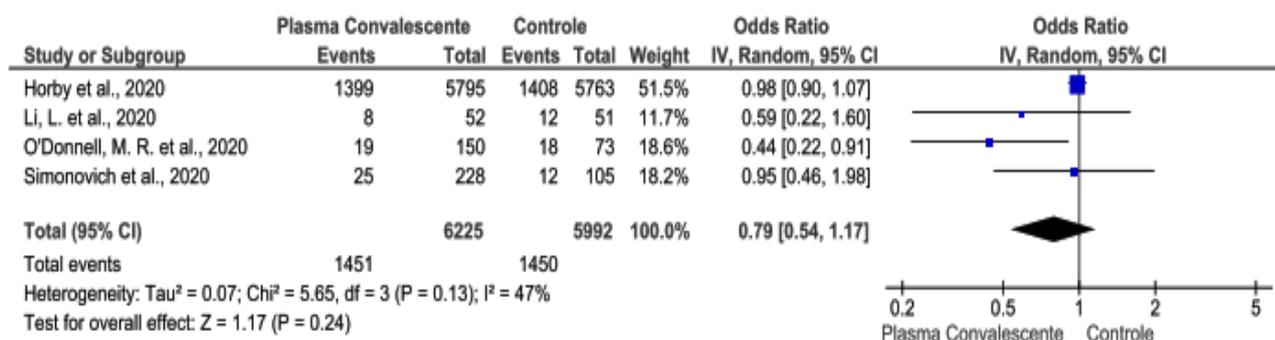
Autor, ano, país	Amostra/Características	Desfecho	Resultados
Li, L et al., 2020 (China)	Ensaio clínico foi aberto, multicêntrico, randomizado e duplo-cego. Com um n de 52 pacientes para plasma convalescente vs padrão tratamento padronizado (controle) um n de 51, estratificado pela gravidade da doença.	O desfecho primário foi o tempo para melhora clínica dentro de 28 dias, definido como o paciente recebeu alta com vida ou redução da gravidade da doença. Os desfechos secundários incluíram mortalidade em 28 dias e tempo para alta.	Dos 103 pacientes que foram randomizados, 101 (98,1%) completaram o ensaio. A melhora clínica ocorreu dentro de 28 dias em 51,9% (27/52) do grupo de plasma convalescente vs 43,1% (22/51) no grupo de controle (diferença, 8,8% [IC de 95%, -10,4% a 28,0%]. não houve diferença significativa na mortalidade em 28 dias (15,7% vs 24,0%; OR, 0,65 [IC 95%, 0,29-1,46]; P = 0,30). Dois pacientes no grupo de plasma convalescente apresentaram eventos adversos horas após a transfusão que melhorou com cuidados de suporte.
O'Donnell, M.R. et al., 2020 (EUA/Brasil)	O método foi ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. Com um n de 223 participantes inscritos, 150 foram os pacientes randomizados para receber plasma convalescente e 73, foi o n para tratamento padronizado (controle).	O desfecho primário foi o estado clínico 28 dias após a randomização, medido usando uma escala ordinal e analisado usando um modelo de chances proporcionais na população com intenção de tratar	Aos 28 dias, nenhuma melhora significativa no estado clínico foi observada em participantes randomizados para plasma convalescente (OR 1,50, intervalo de confiança de 95% (CI) 0,83-2,68, p = 0,180). No entanto, a mortalidade em 28 dias foi significativamente menor em participantes randomizados para plasma convalescente versus plasma controle (19/150 [12,6%] versus 18/73 [24,6%], OR 0,44, IC 95% 0,22-0,91, p = 0,034).
Simonovich, V. A. et al., 2020 (Argentina)	O método do ensaio clínico foi duplo-cego, controlado por placebo, multicêntrico. Com um n de 228, foram designados os pacientes para receber plasma convalescente e 105 para receber placebo.	O desfecho primário foi o estado clínico do paciente 30 dias após a intervenção, medido em uma escala ordinal de seis pontos que varia desde a recuperação total até a morte. Os desfechos secundários foram o estado clínico na escala ordinal nos dias 7 e 14 e o tempo (em dias) para a alta do hospital, o tempo para a alta da unidade de terapia intensiva (UTI) e a incidência de eventos adversos e graves eventos adversos	No dia 30, nenhuma diferença significativa foi observada entre o grupo de plasma convalescente e o grupo de placebo na distribuição dos resultados clínicos de acordo com a escala ordinal (odds ratio, 0,83 (intervalo de confiança de 95% [IC], 0,52 a 1,35; P = 0,46). A mortalidade geral foi de 10,96% no grupo de plasma convalescente e 11,43% no grupo de placebo, para uma diferença de risco de -0,46 pontos percentuais (IC de 95%, -7,8 a 6,8). Eventos adversos e eventos adversos graves foram semelhantes em os dois grupos.
Horby, P. W. et al., 2020. (Reino Unido)	O método foi um ensaio clínico randomizado, controlado, aberto e multicêntrico em 177 centros/hospitais no Reino Unido. Com um n de 5795 pacientes no grupo de plasma convalescente e um n de 5763 pacientes no grupo de tratamento usual (controle).	O desfecho primário foi a mortalidade em 28 dias, analisada com base na intenção de tratar. Os desfechos secundários foram o tempo de alta hospitalar e em pacientes que não recebem ventilação mecânica aleatória, recebimento subsequente de ventilação mecânica invasiva (incluindo oxigenação por membrana extracorpórea) ou morte.	Não houve diferença significativa na mortalidade de 28 dias entre os dois grupos: 1.399 (24%) de 5.795 pacientes no grupo de plasma convalescente e 1.408 (24%) de 5.763 pacientes no grupo de tratamento usual morreram em 28 dias (razão de taxa 1 · 00, IC 95% 0 · 93-1 · 07; p = 0 · 95). A taxa de mortalidade de 28 dias foi semelhante em todos os subgrupos pré-especificados de pacientes, incluindo aqueles pacientes sem anticorpos SARS-CoV-2 detectáveis na randomização.

Fonte: Elaboração do Autor

7.1 Mortalidade – Desfecho Primário

O *Odds Ratio* para o desfecho de mortalidade nos 4 ensaios em destaque, assim como mostra a figura abaixo (figura 11) foi de 0,79 (IC 95%: 0,54 – 1,17; p-valor = 0.24), sendo que não possui diferença significativa entre os dois grupos. Os resultados indicam grau mediano de heterogeneidade entre os estudos incluídos, com $I^2 = 47\%$. Porém, apesar de haver uma tendência a favor da intervenção pelo plasma convalescente, não há diferença significativa entre os grupos, ou seja, o uso do plasma não foi eficaz em evitar o número de mortes.

Figura 11 – *Forest plot* da associação entre o plasma convalescente e a mortalidade por COVID-19.



Fonte: Review Manager 5.3

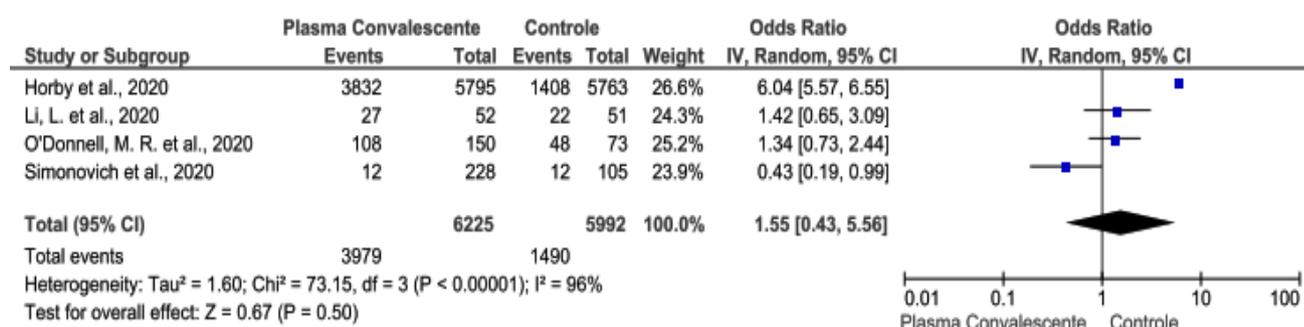
O desfecho de mortalidade em 28 dias, para os autores dos estudos foi incluindo análise do tempo desde a randomização até a morte (com variação de 26 a 30 dias entre os estudos), para O'Donnell *et al.* (2020), todas as mortes registradas ocorreram durante a hospitalização e nenhuma diferença significativa entre os grupos foi observada nos outros desfechos secundários, Para análise deste desfecho, a tendência de favorecer o grupo randomizado, está relacionado ao alto título de anticorpo anti-SARS-CoV2 que foi associado com melhoria da mortalidade entre os pacientes internados do que os que estavam recebendo no momento da transfusão apenas o controle, o que poderia tornar a mortalidade significativamente menor entre os pacientes randomizados para o plasma convalescente. Esse achado deve ser interpretado com cautela, pois difere dos resultados de estudos maiores com pacientes internados com capacidade adequada para detectar diferenças na mortalidade, como o desfecho relacionado a recuperação. Em comparação com Simonovich *et al.* (2020) e a Horby *et al.* (2020), além da observação dos 28 dias, houve também a observação nos 7 primeiros dias, e nenhuma diferença significativa entre os grupos no estado clínico na escala

ordinal foi observada. O ensaio do Simonovich, afirma que os dados são consistentes, os comparando com os resultados publicados pelo Kumar *et al.* (2020), que foi um ensaio clínico randomizado e controlado em pacientes com Covid-19 moderado, e que não mostrou diferença na morte no dia 28 ou 30, embora a intervenção não tenha sido cega e o plasma convalescente infundido tenha títulos muito baixos de anticorpos específicos, assim como Li *et al.* (2020), também não registrou diferença significativa nos resultados de mortalidade em 28 dias ou tempo desde a randomização até a alta. Horby *et al.* (2020) também pontua que 38% dos pacientes do grupo experimental, eram soronegativos e mesmo que tivessem um aumento acentuado de anticorpos anti-SARS-CoV-2, se tornando soropositivos na randomização, não foi observado nenhum benefício significativo na sobrevivência dos pacientes com o uso do plasma convalescente.

7.2 Cura/Diminuição dos sintomas – desfecho secundário

O *Odds Ratio* para o desfecho de diminuição dos sintomas clínicos em 28 dias pós transfusão foi de 1,55 (IC 95%: 0,43- 5,56; p-valor = 0,50), Apesar de haver uma tendência a favor do controle, não há diferença significativa entre os grupos. Ou seja, o uso do plasma não foi eficaz em evitar o número de mortes. Os resultados indicam um alto grau de heterogeneidade nos estudos incluídos, $I^2 = 96\%$. Como no exemplo da figura 12.

Figura 12 – *Forest plot* de associação entre a diminuição dos sintomas no uso do plasma convalescente e do grupo controle.



Fonte: Review Manager 5.3

Diferentemente da mortalidade, o desfecho dos sintomas clínicos contrasta bastante para O'Donnell *et al.* (2020), e não mostra nenhuma diferença significativa na escala clínica até o dia 28. Uma possível explicação para essa aparente contradição pode ser que, embora os pacientes tivessem maiores chances de sobrevivência no plasma convalescente, eles permaneceram hospitalizados em seu estado clínico inicial (por exemplo, ventilado

mecanicamente) e, portanto, não alcançou uma melhora na pontuação clínica de 28 dias. A avaliação do desfecho primário do estado clínico em 28 dias, foi o tempo de randomização até a melhora clínica - definida como melhora em pelo menos um ponto da linha de base na escala ordinal ou vivo na alta hospitalar, o que ocorrer primeiro, representado por uma das seis categorias ordinais mutuamente exclusivas em uma versão adaptada da escala clínica da Organização Mundial da Saúde (OMS). O'Donnell et al., (2020) afirma que mesmo que os pacientes randomizados 1,5 vezes a chance de uma melhora de até um ponto no estado clínico no dia 28, essa diferença não foi estatisticamente significativa na metanálise como mostra a figura 12. E embora limitados, os dados disponíveis sugerem que a eficácia do tratamento para plasma convalescente pode depender da duração e gravidade da doença e dos títulos de anticorpos neutralizantes anti-SARS-CoV-2 no plasma transfundido. Ressaltando que a duração mediana dos sintomas no início do estudo foi de 9 dias e que a administração precoce de plasma convalescente de alto título pode ter um maior potencial de benefício (LIBSTER, R. et al., 2021).

O desfecho para Simonovich *et al.*, (2020), apontou que no dia 30, nenhuma diferença significativa foi observada entre o grupo de plasma convalescente e o grupo de placebo na distribuição dos resultados clínicos de acordo com a escala ordinal, anteriormente citada. Mostrando que o uso de plasma convalescente não resultou em algum benefício clínico significativo em comparação com o placebo em pacientes com diagnóstico de Covid-19 grave. No ensaio, os autores garantem que mais de 95% das unidades de plasma convalescente transfundidas tinham um título de anticorpo anti-SARS-CoV-2 total de pelo menos 1: 800 e que o volume de plasma infundido tinha um fator de correção de acordo com o peso do participante, mostrando que o resultado não tinha relação com o título de anticorpo. Esse achado contrasta com os achados de uma série de estudos não randomizados que afirmam que o plasma convalescente tem um benefício substancial, como o SHEN *et al.* (2020), ZHOU *et al.* (2020) e CHENG *et al.*, (2020).

Para Horby et al., (2020) os resultados deste ensaio mostram que o plasma convalescente não melhorou a sobrevivência ou outros desfechos clínicos em pacientes hospitalizados com COVID-19. Mesmo os resultados sendo consistentes em todos os subgrupos de idade, sexo, etnia, duração dos sintomas antes da randomização, nível de suporte respiratório recebido na randomização e uso de corticosteroides, os resultados também são consistentes com a evidência de estudos randomizados de plasma convalescente para pacientes hospitalizados com COVID-19, sem evidência de benefício de sobrevivência

relatados anteriormente por outros autores (LI *et al.*, 2020; SIMONOVICH *et al.* 2020; BAJPAI *et al.* 2020).

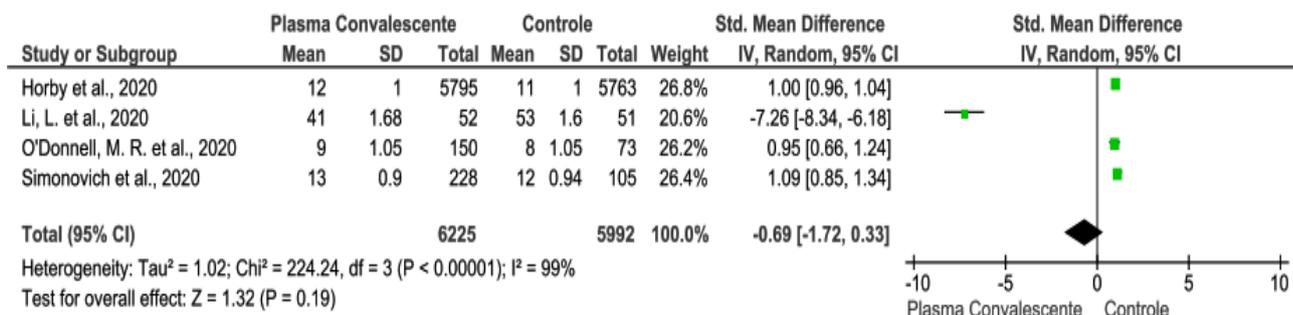
Foi sugerido, mais uma vez, que os benefícios do plasma convalescente dependem do título neutralizante transfundido e que o uso de plasma com títulos mais baixos poderia explicar os resultados negativos de estudos randomizados anteriores, embora isso não possuíssem nenhuma confirmação científica. Horby *et al.* (2020) também não exclui que exista a possibilidade de “pequenas melhorias” na probabilidade de alta bem-sucedida do hospital no dia 28 em pacientes soronegativos que receberam plasma convalescente. No entanto, os resultados desses desfechos devem ser interpretados com cautela. Assim, não foi encontrada evidências de que o plasma convalescente de alto título melhorou a sobrevida ou outros desfechos clínicos pré-especificados em pacientes hospitalizados com COVID-19. Se o plasma convalescente beneficiaria outros grupos de pacientes é desconhecido e precisaria ser avaliado em outro desfecho, mesmo para uma quantidade de pacientes tão grande como foi nesse ensaio.

Para Li *et al.* (2020), a melhora clínica foi definida como alta do paciente ou redução de 2 pontos em uma escala de gravidade da doença de 6 pontos. Para todos os pacientes combinados, não houve diferença significativa no resultado primário de tempo para melhora clínica em 28 dias.

7.3 Tempo de internação pós-transfusão – desfecho secundário

Os efeitos no tempo de internação pós-transfusão foram avaliados utilizando diferença média com intervalos de confiança de 95% por meio de um modelo de efeito aleatório. Os resultados do gráfico, sugerem que não há associação estatisticamente significativa entre o uso do plasma convalescente e o tempo de internação (diferença entre médias= -0,69, IC 95%, -1,72 – 0,33; $p = 0,19$). Os resultados indicam um alto grau de heterogeneidade entre os estudos incluídos, $I^2=99\%$ (Figura 13).

Figura 13 – *Forest plot* de associação entre o uso do plasma convalescente e o tempo de internação pós-transfusão.



Fonte: Review Manager 5.3

Para a maioria dos ensaios de pacientes com COVID-19 grave ou com risco de vida, não houve diferença significativa em o tempo de internação entre os pacientes que receberam terapia de transfusão de plasma convalescente combinada com o tratamento padrão, diferente daqueles que receberam o tratamento padrão sozinho. Para O'Donnell et al., (2020) a pesquisa foi concluída com oito participantes com estado clínico indeterminado no último dia, mesmo tendo alta com vida, não puderam ser contatados no dia 28. Os outros autores do estudo descreveram o tempo médio desde a inscrição na randomização até a alta hospitalar como de 20 dias.

Para Horby et al., (2020) e Simonovich et al., (2020), nenhuma diferença a favor do plasma convalescente foi observada nesse desfecho ou em qualquer um dos subgrupos, no ensaio do Simonovich et al., (2020), a análise adicional deste subgrupo não revelou qualquer explicação clara, e isso foi interpretado como um achado casual, embora uma confirmação adicional em outros estudos possam ser necessária. Já para Li et al., (2020), o intervalo médio entre o tempo de internação e à randomização foi de 30 dias (com média de 20-39 dias) no geral, embora o tratamento com plasma convalescente foi associado a taxas mais altas de resultados negativos da PCR viral para SARS-CoV-2 de esfregaços nasofaríngeo em 24, 48 e 72 horas, demonstrando que o tratamento com plasma convalescente foi associado à atividade antiviral em pacientes com COVID-19.

8. Análise de Segurança e Efeitos Adversos

Em todos os 4 estudos, não foi observado nenhuma diferença significativa nos eventos adversos entre os grupos de tratamento e muito poucos eventos foram considerados relacionados à infusão de plasma. Para O'Donnell et al., (2020) os eventos adversos graves ocorreram em 39 de 147 (26,5%) pacientes que receberam plasma convalescente e 26 de 72 (36,1%) pacientes que receberam plasma de controle. Esses eventos adversos eram considerados como definitivamente ou provavelmente associados a transfusão do plasma, e incluíram agravamento da anemia, urticária, erupção cutânea e sobrecarga circulatória associada à transfusão, não associando a mortalidade. Simonovich et al., 2020, mostra que os eventos adversos relacionados à transfusão, foram ligeiramente mais comuns no grupo de plasma convalescente 11 de 228 pacientes (4,8%) do que no grupo de placebo, 2 de 105 pacientes (1,9%;). Cinco pacientes no grupo de plasma convalescente e nenhum no grupo de placebo apresentaram reações febris não hemolíticas.

Os resultados de segurança da transfusão, para os eventos adversos, com Horby et al., (2020) foram eventos adversos relacionados à transfusão 72 h após a randomização (piora do estado respiratório, suspeita de reação à transfusão, febre, hipotensão, hemólise e eventos trombóticos), causas específicas, mortalidade e arritmia cardíaca importante. A informação sobre reações adversas graves ao plasma convalescente foi recolhida de forma rápida através do esquema existente de Hemovigilância de Perigos Graves da Transfusão do NHS.

Para Horby et al., (2020), 13 pacientes que receberam plasma convalescente tiveram notificações submetidas ao esquema de hemovigilância de Riscos Graves da Transfusão: nove pacientes com reações pulmonares (nenhuma considerada como lesão pulmonar aguda relacionada à transfusão, incluindo três mortes possivelmente relacionadas à transfusão), e quatro pacientes com febril grave, reações alérgicas ou hipotensivas (todas recuperadas). Nas primeiras 72 horas após a randomização, reações alérgicas graves foram relatadas em 16 de 5795 pacientes (<1%) no grupo de plasma convalescente e 2 de 5763 (<1%) pacientes no grupo de tratamento usual. A frequência de agravamento súbito do estado respiratório, temperatura superior a 39 graus, hipotensão súbita, hemólise clínica e eventos trombóticos foram amplamente semelhantes nos dois grupos. Em Li et al., (2020), houve 2 casos de eventos adversos associados à transfusão relatados. Um caso foi determinado como uma reação transfusional alérgica definitiva não severa e o outro caso foi determinado como uma possível dispneia associada à transfusão severa. A taxa é um pouco mais alta do que a taxa geral de reações associadas à transfusão de plasma, possivelmente devido ao pequeno tamanho da amostra.

9. Principais Limitações dos Estudos

Os estudos possuem diversas limitações. Para O'Donnell et al. (2020), embora o plasma convalescente tenha sido coletado de doadores com título de anticorpo IgG total anti-SARS-CoV-2 $\geq 1:400$, os títulos de anticorpos neutralizantes em algumas unidades de plasma convalescente eram baixos, e relatam que não possuem dados sobre os títulos de anticorpos em amostras de pacientes randomizados pré e pós-transfusão, além de que os cuidados de suporte não foram padronizados nos locais de estudo (Brasil e Estados Unidos). No entanto, não foi observado diferenças significativas nos resultados estratificados por país. Para Simonovich et al., (2020), a mediana do tempo desde o início dos sintomas até a progressão para insuficiência respiratória é de cerca de 7 dias. Esse intervalo de tempo é semelhante ao tempo médio desde o início dos sintomas até a inscrição no ensaio clínico. Assim, nenhuma conclusão firme pode ser tirada sobre o potencial eficácia da terapia imune passiva mais cedo

do que a mediana, no momento de entrada no estudo ou em pacientes com formas mais brandas de doença.

Li et al., (2020) foi um dos autores que teve menor tamanho da amostra e o estudo foi encerrado precocemente. É possível que o estudo tenha sido insuficiente para detectar um benefício clinicamente importante da terapia de plasma convalescente. Este também foi um estudo aberto e o desfecho primário foi baseado, até certo ponto, nas decisões de manejo clínico dos médicos, deixando abertura para uma grande quantidade de viés e o uso da terapia padrão foi permitido em ambos os grupos e não foi protocolizado, o que poderia ter potencialmente influenciado os resultados. O plasma não foi usado para o grupo de controle, que teria sido um grupo de controle mais ideal, tornando possível o design cego.

Para ambos os grupos, período de tempo de 28 dias de acompanhamento do estudo pode ter impedido a observação de melhora clínica em pacientes com doenças graves, especialmente COVID-19 com risco de vida, pois eles podem levar mais tempo para responder e se recuperar. Assim, os resultados do estudo devem ser interpretados com cautela, visto que as práticas podem variar de país para país e de hospital para hospital, como os tipos de tratamento padrão, cuidados de suporte e limites para intubação e admissão hospitalar.

10. Considerações Finais

Considerando as limitações de cada ensaio, os autores concluem que nenhuma diferença significativa foi detectada nas análises realizada nestes ensaios, acreditando que o uso de plasma convalescente como padrão de tratamento em tais pacientes deve ser reavaliado.

Porém, no contexto das variantes emergentes do SARS-CoV-2, em 2021, algumas das quais podem estar associadas a maior transmissibilidade e doenças mais graves, o plasma convalescente pode oferecer vantagens terapêuticas distintas. Por ser um plasma convalescente, que contém anticorpos policlonais, pode ser doado e transfundido localmente, seu uso pode ser mais adaptável a mudanças rápidas na ecologia viral local do que outras intervenções. Além disso, uma vez que a coleta e distribuição de unidades de plasma convalescente podem ser realizadas usando os protocolos e infraestrutura existentes de doação de sangue, o plasma convalescente pode ser mais escalonável para uso em países de baixa e média renda. Além de se tratar de um processo no qual seria bem empregado em um contexto inicial de uma pandemia em situações de emergência na saúde pública, até que se consiga um resultado eficiente de tratamento.

Os resultados que favorecem a metanálise para o uso do plasma convalescente deve ser interpretado com cautela até que os resultados completos de estudos maiores com pacientes internados com potência adequada para detectar diferenças no desfecho primário estejam disponíveis.

11. Cronograma

Atividade/ Mês	J 20	J 20	A 20	S 20	O 20	N 20	D 20	J 21	F 21	M 21	A 21	M 21	J 21	J 21	A 21	S 21	O 21
Revisão de Literatura	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Elaboração do Projeto	X																
Coleta de dados			X	X	X	X	X	X	X	X	X						
Análise dos dados								X	X	X	X	X	X				
Qualificação									X								
Discussão e Conclusão											X	X	X	X	X		
Entrega da Tese Defesa pública																	X

Quadro 7 – Cronograma de execução do projeto do período de junho de 2020 a outubro de 2021.

12. Referências

ABDULLAH et al. Adaptive Immune Responses to SARS-CoV-2 and Prophylactic Vaccines for COVID-19. **GSJ**: Volume 8,2020.

ABDUL GHAALIQ LALKHEN, MB CHB FRCA, ANTHONY MCCLUSKEY, BSC MB CHB FRCA, STATISTICS V: Introduction to clinical trials and systematic reviews, Continuing Education in Anaesthesia Critical Care & Pain, Volume 8, Issue 4, August 2008, Pages 143–146, <https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkn023>

ACCORSI, P. et al. Position paper on the preparation of immune plasma to be used in the treatment of patients with COVID-19. **Transfusion and Apheresis Science**, DOI 10.2450, 2020.

ALZOUGHLOO, F.; ALANAGREH, L. Coronavirus drugs: Using plasma from recovered patients as a treatment for COVID-19. **International Journal of Risk & Safety in Medicine** 1,1–5. 2020.

Anvisa-A. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2020). Nº 19/2020/SEI/GSTCO/DIRE1/ANVISA. Nota Técnica, Aspectos regulatórios do uso de plasma de doador convalescente para tratamento da Covid-19. Disponível em: <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/05/1096174/plasmaconvalescente-covid19.pdf>.

Anvisa-B. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2020). Nº 21/2020-CGSH/DAET/SAES/MS. Nota Técnica, Coleta e transfusão de plasma de convalescentes para uso experimental no tratamento de pacientes com COVID-19. Disponível em: http://www.mpggo.mp.br/portal/arquivos/2020/08/28/17_14_32_355_Nota_T%C3%A9cnica_n_21_2020_CGSH_DAET_SAES_MS_Orientacoes_Plasma_convalescente_COVID_19.pdf.

Anvisa-C. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2000). Resolução de Diretoria Colegiada - RDC Nº 73, DE 3 DE AGOSTO DE 2000. Dispõe sobre o Programa Nacional de Sangue e Hemoderivados, regula o uso e a disponibilidade do Plasma Fresco Congelado Excedente do Uso Terapêutico no Brasil e dá outras providências. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2000/res0073_03_08_2000.html.

Anvisa-D. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. (2014). Resolução da Diretoria Colegiada - RDC nº 34, de 11 de junho de 2014. Dispõe sobre as Boas Práticas no Ciclo do Sangue. Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/carga20170553/04145350-rdc-anvisa-34-2014.pdf>.

BUDHAI et al. How did we rapidly implement a convalescent plasma program?. **TRANSFUSION** 1, 9999;1–8, 2020.

BLOCH et al. Deployment of convalescent plasma for the prevention and treatment of COVID-19, *Clin Invest*, <https://doi.org/10.1172/JCI138745>. 2020.

BAJPAI M, KUMAR S, MAHESHWARI A, et al. Efficacy of convalescent plasma therapy compared to fresh frozen plasma in severely ill COVID-19 patients: a pilot randomized controlled trial. medRxiv 2020; published online Oct 27. <https://doi.org/10.1101/2020.10.25.20219337> (preprint).

BARONE, P.; SIMONE, R. A. Convalescent plasma to treat coronavirus disease 2019 (COVID-19): considerations for clinical trial design. *TRANSFUSION* 1, 9999;1–5. 2020.

CASADEVALL, A.; PIROFSKI, L. The convalescent sera option for containing COVID-19, *J Clin Invest*. 130(4):1545-154, 2020.

CUI, J., LI, F., SHI, ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nature Reviews Microbiology*, v. 17. 2019.

CATANZARO, M. Immune response in COVID-19: addressing a pharmacological challenge by targeting pathways triggered by SARS-CoV-2. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 5:84. 2020.

CHENG Y, WONG R, SOO YOY, et al. Use of convalescent plasma therapy in SARS patients in Hong Kong. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24:44-6.

CHANG, FY., et al. Immunologic aspects of characteristics, diagnosis, and treatment of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of Biomedical Science*. <https://doi.org/10.1186/s12929-020-00663-w>. 2020.

DEEKS, JJ. et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2020. DOI: 10.1002/14651858.

ESTIPONA, D. The Molecular Targets of SARS-CoV-2. *Biocompare*, Preprint, 2020.

FOCOSI, D.; ANDERSON, A. O.; TANG J. W.; Tuccori, M. Convalescent Plasma Therapy for Covid-19. **Researchgate**, preprint 04.0097.v3, 2020.

FEHR, A. R., PERLMAN, S. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. *Methods in Molecular Biology*, vol. 1282. DOI 10.1007/978-1-4939-2438-7_1.

GUAN, W., et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England Journal of Medicine*. 382;18. April 30, 2020.

GARCIA, L. F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, volume 11, Article 1441. 2020.

HIGGINS, J. P. T; ALTMAN, D.; GOTZCHE, P.C.; JUNI, P.; MOHER, D.; OXMAN, A.D. The Cochrane Collaboration's tool for assessing risk of bias in randomised trials. *BMJ*. 2011; 343: d5928.

HEGAZY, A. A., HEGAZY, R. A. COVID-19: Virology, Pathogenesis and Potential Therapeutics. *Afro-Egypt J Infect Endem Dis*,10(2).93-99,2020;

HORBY, P.W., et al. Convalescent plasma in patients admitted to hospital with COVID-19 (RECOVERY): a randomized controlled, open-label, platform trial. *The lancet*. May 14, 2021 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00897-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00897-7)

JAUREGUI, DM., et al. Convalescent serum therapy for COVID-19: A 19th century remedy for a 21st century disease. *PLOS Pathogens* <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008735>. 2020.

KELLAM, P., BARCLAY, W. The dynamics of humoral immune responses following SARS-CoV-2 infection and the potential for reinfection. *Journal of General Virology*, DOI 10.1099/jgv.0.001439. 2020.

KU, Z. et al. Antibody therapies for the treatment of COVID-19. *Antibody Therapeutics*, Vol. 3, No. 2 101–108.2020.

LIBSTER R, PEREZ MARC G, WAPPNER D, COVIELLO S, BIANCHI A, BRAEM V, et al. Early High-Titer Plasma Therapy to Prevent Severe Covid-19 in Older Adults. *N ENGL J MED*. 2021;384(7):610-8.

LI, G., et al. Coronavirus infections and immune responses. *Journal of Medical Virology.*, 92:424–432. 2020.

LI, L., et al. Effect of Convalescent Plasma Therapy on Time to Clinical Improvement in Patients with Severe and Life-threatening COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*.2020; 324(5):460-470. [doi:10.1001/jama.2020.10044](https://doi.org/10.1001/jama.2020.10044).

Mathieu, E., Ritchie, H., Ortiz-Ospina, E. et al. A global database of COVID-19 vaccinations. *Nat Hum Behav* (2021)

MORABITO, C. J., GANGADHARAN, B. Active Therapy with Passive Immunotherapy May Be Effective in the Fight against Covid-19;

Ministério da Saúde do Brasil. (2020). Coordenação De Gestão De Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Diretrizes Para Diagnóstico e Tratamento Da Covid-19, Versão 4. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde – SCTIE. Disponível em:

<https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/14140600-2-ms-diretrizes-covid-v2-9-4.pdf>.

Ministério da Saúde do Brasil. Coordenação de Gestão de Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas. Diretrizes Para Diagnóstico e Tratamento da Covid-19, Versão 4. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde – SCTIE. (2020). Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/14140600-2-ms-diretrizes-covid-v2-9-4.pdf>. Acesso: 19/01/2021;

NADOUSHAN, M. J. et al. Serology Testing for SARS-CoV-2: Benefits and Challenges. *Iran J Pathol.* 15(3): 154-155. 2020.

O'DONNELL, M. R., et al. A randomized double-blind controlled trial of convalescent plasma in adults with severe COVID-19. *Clin Invest.* 2021. <https://doi.org/10.1172/JCI150646>.

Organização Pan-Americana de Saúde (OPAS). Exames laboratoriais para a doença causada pelo novo coronavírus (COVID-19) de casos suspeitos em humanos. Orientações provisórias. Março, 2020.

ÖZDEMİR, O.; ARSOY, H. E. M.; Convalescent (Immune) Plasma Therapy with all Aspects: Yesterday, Today and COVID-19. *Erciyes Med J*, 42(0). 2020.

PESSOA, B. M. S. et al. Imunoterapias No Tratamento Da Covid-19. **Revista Desafios** – v. 7, n. Supl. COVID-19, 2020.

RABI, F. A. et al. SARS-CoV-2 and Coronavirus Disease 2019: What We Know So Far. *Pathogens*, 9, 231.2020.

ROJAS, M. et al. Convalescent plasma in Covid-19: Possible mechanisms of action. *Autoimmunity Reviews*, 19-102554. 2020.

RUBIN, R. Testing an Old Therapy Against a New Disease: Convalescent Plasma for COVID-19. *JAMA.* 2020.

SIMONOVICH, V.A., BURGOS PRATX, L.D., et al. A Randomized Trial of Convalescent Plasma in Covid-19 Severe Pneumonia. *n engl j med*, 24, 2020; DOI: 10.1056/NEJMoa2031304.

SHEREEN, M. A. et al. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. **Journal of Advanced Research**, 24, 91–98. 2020.

SHEN C, WANG Z, ZHAO F, *et al.* Treatment of critically ill patients with COVID-19 with convalescent plasma. **JAMA**,2020; 323: 1582-9.

SULLIVAN, H. C.; ROBACK, J. D. Convalescent Plasma: Therapeutic Hope or Hopeless Strategy in the SARS-CoV-2 Pandemic. **Transfusion Medicine Reviews**. ytmrv-50612, 2020.

SUN, M., A potentially effective treatment for COVID-19: A systematic review and meta-analysis of convalescent plasma therapy in treating severe infectious disease. *International Journal of Infectious Diseases*, 98, 334–346.2020.

TANG, YW. *et al.* Laboratory Diagnosis of COVID-19: Current Issues and Challenges. *Journal of Clinical Microbiology*. Volume 58, 12-20. 2020.

TIBERGHIEU, P., YAZDANPANAH, Y., LAMBALLERIE, X., MOREL, P., GALLIAN, P., LACOMBE, K. Collecting and evaluating convalescent plasma for COVID-19 treatment: why and how. **Vox Sanguinis**, 2020. DOI: 10.1111/vox.12926.

Universidade Federal da Bahia (UFBA), Fundação Oswaldo Cruz (FioCruz), Centro de Integração de Dados e Conhecimento para Saúde (Cidacs). Ciência, Informação e Solidariedade. Testes diagnósticos da COVID-19: Bases das indicações e seus usos. **Rede CoVida**. Abril, 2020.

VABRET, N. Immunology of COVID-19: Current State of the Science. *Immunity*, 52, 2020.

VARDHANA, S. A., WOLCHOK J. D. The many faces of the anti-COVID immune response. *J. Exp. Med.* Vol. 217, No. 6.2020.

VENKAT KUMAR, G.; JEYANTHI, V.; RAMAKRISHNAN, S. A short review on antibody therapy for COVID-19. **New Microbe and New Infect**, 35, 2020.

WHO Working Group on the Clinical Characterisation and Management of COVID-19 infection. A minimal common outcome measure set for COVID-19 clinical research. **Lancet Infect Dis** 2020; 20(8): e192-e197.

YOUNES, N. *et al.* Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS- CoV-2. **Viruses**, 12, 582. 2020, doi:10.3390/v12060582.

XAVIER, A. R. *et al.* COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **J Bras Patol Med Lab**.56: 1-9. 2020.

XU, X. *et al.* Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci* vol.63-no.3: 457–460. 2020.

ZHAO, J., *et al.* Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. **medRxiv** preprint doi: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>, 2020.

ZHOU, G.; ZHAO, Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. **International Journal of Biological Sciences**, 16(10), doi: 10.7150/ijbs.45123. 2020.

13. Anexos

Anexo A. Comprovante de Submissão do artigo científico a uma revista de Qualis A4

Anexo B. Artigo Submetido a Revista Panamericana de Salud Publica.