UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

MARIENE RIBEIRO AMORIM

ESTUDO GENÔMICO E EPIDEMIOLÓGICO DO SARS-COV-2 EM CAMPINAS, BRASIL, COMO ESTRATÉGIA PARA VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA, CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19

GENOMIC-EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF SARS-COV-2 VIRUS IN THE CITY OF CAMPINAS, BRAZIL, AS A STRATEGY FOR IMMUNOLOGICAL, CLINICAL, AND EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE DURING THE COVID-19 PANDEMIC

CAMPINAS

2024

MARIENE RIBEIRO AMORIM

ESTUDO GENÔMICO E EPIDEMIOLÓGICO DO SARS-COV-2 EM CAMPINAS, BRASIL, COMO ESTRATÉGIA PARA VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA, CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19

GENOMIC-EPIDEMIOLOGICAL STUDY OF SARS-COV-2 VIRUS IN THE CITY OF CAMPINAS, BRAZIL, AS A STRATEGY FOR IMMUNOLOGICAL, CLINICAL, AND EPIDEMIOLOGICAL SURVEILLANCE DURING THE COVID-19 PANDEMIC

Tese apresentada ao Instituto de Biologia da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutora em Genética e Biologia Molecular, na área de Microbiologia

Thesis presented to the Institute of Biology of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor in Genetics and Molecular Biology, in the area of Microbiology

Orientador: JOSÉ LUIZ PROENÇA MÓDENA

Co-Orientador: WILLIAM MARCIEL DE SOUZA

ESTE ARQUIVO DIGITAL CORRESPONDE À VERSÃO FINAL DA TESE DEFENDIDA PELA ALUNA MARIENE RIBEIRO AMORIM E ORIENTADA PELO PROF. DR. JOSÉ LUIZ PROENÇA MÓDENA.

CAMPINAS

2024

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

Amorim, Mariene Ribeiro, 1992-
Am68e Estudo genômico e epidemiológico do SARS-CoV-2 em Campinas, Brasil, como estratégia para vigilância imunológica, clínica e epidemiológica durante a pandemia da COVID-19 / Mariene Ribeiro Amorim. – Campinas, SP : [s.n.], 2024.

Orientador: José Luiz Proença Módena.
Coorientador: William Marciel de Souza.
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Biologia.

1. SARS-CoV-2 - Campinas (SP). 2. COVID-19. 3. Sequenciamento de nova geração. 4. COVID-19 - Vacina. I. Módena, José Luiz Proença, 1979-. II. Souza, William Marciel de. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Genomic and epidemiological study of SARS-CoV-2 in Campinas, Brazil, as a stategy for immunological, clinical, and epidemiological surveillance during the COVID-19 pandemic
Palavras-chave em inglês:
SARS-CoV-2 - Campinas (São Paulo, Brazil)
COVID-19 (Disease)
Next-generation sequence
COVID-19 vaccines
Área de concentração: Microbiologia
Titulação: Doutora em Genética e Biologia Molecular
Banca examinadora:
José Luiz Proença Módena [Orientador]
Camila Malta Romano
Rodrigo Nogueira Angerami
Renato Santana de Aguiar
André Schwambach Vieira
Data de defesa: 16-02-2024
Programa de Pós-Graduação: Genética e Biologia Molecular

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)
- ORCID do autor: https://orcid.org/0000-0002-8516-0155
- Currículo Lattes do autor: http://lattes.cnpq.br/3881030329301647

Campinas, 16 de fevereiro de 2024.

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. José Luiz Proença Módena

Prof. Dr. André Schwambach Vieira

Prof. Dr. Rodrigo Nogueira Angerami

Profª Dr (a). Camila Malta Romano

Prof. Dr. Renato Santana de Aguiar

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa, que se encontra no processo de vida acadêmica do aluno.

A Ata da defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertação/Tese e na Secretaria do Programa de Pós Graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Biologia.

A todos as pessoas que tiveram fé, empatia, e amor ao próximo.
Aos presentes, e aos entes, queridos,
hoje estrelas no céu.

AGRADECIMENTOS

A todos os integrantes da Força Tarefa da Unicamp Contra a COVID-19 e ao Laboratório de Diagnóstico Molecular de Alto Desempenho pelo comprometimento com a causa, por todos os esforços que foram essenciais não somente para esta pesquisa, como também no enfrentamento da pandemia. À Diretoria Executiva de Relações Internacionais da Unicamp e ao Programa Santander Mobilidade Internacional Estudantes de Pós-Graduação, pela bolsa de intercâmbio acadêmico concedida, edital Nº. 41/2022. À Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB/DAEVS/SVS/MS) e à Oxford Nanopore Technologies pelo apoio com insumos para pesquisa. À ThermoFisher Scientific por ceder um microscópio EVOS para a Força Tarefa durante a pandemia. Ao Instituto de Biologia da Unicamp e seus funcionários pelo apoio e realização de editais que possibilitaram a participações em congressos e apresentação dos resultados obtidos ao longo dos últimos 4 anos. A todos do Blogs de Ciências da Unicamp, pela luta árdua contra a desinformação e *fake news*.

À minha família e amigos, que compuseram a minha rede de apoio e continuaram me dando suporte, ainda que em meio ao caos, cansados e atordoados. Ao meu parceiro e amigo João Paulo, que segurou a minha mão e caminhou comigo nos dias felizes e tristes. Ao meu psicólogo Richard, por me guiar de volta a luz e a mim mesma. Ao meu orientador, Zé (como ele gosta ser chamado), pela oportunidade gigante e única de me permitir ser útil à nossa sociedade com esse projeto de pesquisa, por acreditar em mim, e sem o qual eu não teria encontrado o LEVE e todos os queridos que fizeram parte dessa jornada, aos quais também sou grata. À Fabi, pela coragem e gentileza de permanecer ao nosso lado enfrentando junto todos os obstáculos que surgiam para colocar a prova nossa resiliência. Ao meu coorientador Dr. William Marciel, pelos ensinamentos que me permitiram abrir muitas portas.

Aos profissionais do Centro de Saúde da Comunidade, do Núcleo de Vigilância Epidemiológica e do Laboratório de Patologia Clínica do HC Unicamp, e todos os profissionais da saúde meus sinceros agradecimentos. Aos pacientes e colaboradores que aceitaram participar das pesquisas. Ao Prof. Nuno Faria, a Prof.ª Ester Sabino e a todos os nossos colaboradores. Por fim, ao Departamento de Vigilância em Saúde de Campinas pela confiança e parceria criada, o que trouxe resultados relevantes no combate à pandemia. Esse trabalho é fruto de colaborações, amizade e laços que criamos para toda a vida. Muito obrigada a todos!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001, Nº 88887.356527/2019-00.

Se podes olhar, vê. Se podes ver, repara.

(Ensaio sobre a cegueira, José Saramago)

RESUMO

O vírus *Severe acute respiratory syndrome coronavirus* 2, ou SARS-CoV-2, é o agente etiológico da Doença do Coronavírus 2019 (COVID-19). A infecção pode ser assintomática ou evoluir para doença moderada ou grave, podendo ser fatal em até 3% dos casos. Com o avanço da pandemia e altas taxas de transmissão, esse vírus passou por processos de evolução, com a seleção de mutações em seu genoma de RNA e a emergência de centenas de novas variantes virais. A presente tese teve como objetivo principal caracterizar a evolução desse vírus, sua dispersão e o impacto da imunização na circulação das diferentes variantes de SARS-CoV-2 na cidade de Campinas, São Paulo, entre o período de abril de 2020 a fevereiro de 2022. Foram sequenciados 794 genomas de SARS-CoV-2, abrangendo os cinco distritos de saúde de Campinas. Com a vigilância genômica em associação a dados epidemiológicos, foi observado que medidas de proteção não farmacológicas são efetivas para diminuir a transmissão comunitária de SARS-CoV-2 quando há adesão populacional, sendo mais efetivas antes do aparecimento das principais variantes de preocupação, ou VOCs. Além disso, foi observado que a campanha de vacinação contra a COVID-19 levou à diminuição de casos graves e óbitos em Campinas. Foram identificados casos de reinfecções por linhagens prévias às VOCs, reforçando o contínuo uso de equipamento de proteção individual principalmente por profissionais da saúde. Partículas virais viáveis de SARS-CoV-2 foram isoladas de amostras de pessoas previamente infectadas ou imunizadas, evidenciando possíveis escapes vacinais. Isolados virais obtidos das variantes Alpha e Gamma foram usados para realização de ensaios de neutralização, demonstrando que a variante Gamma pode escapar de anticorpos neutralizantes gerados em resposta a um estímulo policlonal por uma linhagem prévia. Além disso, foi demonstrado que linhagens VOCs de SARS-CoV-2 podem causar surtos de infecção em populações isoladas, mesmo em indivíduos vacinados, mas com uma baixa taxa de agravamento ainda que em populações de alto risco para doença grave, como idosos. Por fim, um estudo de caso de infecção crônica por SARS-CoV-2 em paciente com imunodeficiência rara mostrou que a imunoglobulina A pode ser importante para abolir sítios de infecção persistente desse vírus, provavelmente em associação com a mucosa gastrointestinal. Desse modo, os resultados aqui apresentados destacam a importância das medidas preventivas, da vigilância genômica e epidemiológica e da vacinação no combate à pandemia da COVID-19.

ABSTRACT

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, or SARS-CoV-2, is the etiological agent of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). The infection includes asymptomatic, moderate, and severe cases, and it can be fatal. With the advancement of the pandemic and high transmission rates, this virus has undergone evolutionary processes, with the selection of mutations in its RNA genome and the emergence of new viral variants. The main objective of this thesis was to characterize the virus's evolution, its spread, and the impact of immunization on the circulation of different SARS-CoV-2 variants in the city of Campinas, São Paulo, between April 2020 and February 2022. A total of 794 genomes of this virus were sequenced, covering the five health districts of Campinas. Through genomic surveillance combined with epidemiological data, it was observed that non-pharmacological protective measures are effective in reducing community transmission of SARS-CoV-2 when there is population adherence, being more effective before the appearance of the main variants of concern (VOCs) lineages. The COVID-19 vaccination campaign led to a decrease in severe cases and deaths in Campinas. Cases of reinfections with lineages predating the variants of concern were also identified, emphasizing the continued use of personal protective equipment, especially by healthcare professionals. Viable viral particles of SARS-CoV-2 were isolated from samples of previously infected or immunized individuals. Viral isolates of Alpha and Gamma lineages were used for neutralizing assays, demonstrating that the Gamma variant can evade neutralizing antibodies generated in response to a polyclonal stimulus by a previous lineage. Furthermore, it was demonstrated that VOCs lineages of SARS-CoV-2 are able to cause outbreaks in isolated populations of vaccinated people, with a low rate of aggravation, even in at-risk populations, highlighting the effectiveness of vaccines against severe disease. Finally, a case study of chronic SARS-CoV-2 infection in a patient with a rare immunodeficiency showed that immunoglobulin A, is crucial to control virus persistence in mucosal sites. The presented results underscore the importance of preventive measures, genomic and epidemiological surveillance, and vaccination in the fight against the COVID-19 pandemic.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Os questionamentos e o dinamismo epidemiológico da COVID-19 ao longo do tempo.....19

Figura 2. Vias de transmissão do SARS-CoV-2 e exemplos de infecção natural de espécies animais.....23

Figura 3. Morfologia e ciclo replicativo dos coronavírus.....26

Figura 4. Fases de reabertura do comércio determinadas no Plano São Paulo.....33

Figura 5. Variantes de preocupação e as mutações no gene S.....41

Figura 6. Classificação dos diferentes espectros clínicos da COVID-19.....50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Outras reinfecções identificadas durante o período do estudo.....109

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2	Do inglês *Angiotensin-converting enzyme* 2
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APOBEC	Do inglês *Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic polypeptide-like*
BARDA	Do inglês *Biomedical Advanced Research and Development Authority*
cDNA	DNA complementar
CECOM	Centro de Saúde Comunitário da Unicamp
CEPI	Do inglês *Coalition for Epidemic Preparedness Innovations*
COVAX	Mecanismo de Acesso Global para Vacinas COVID-19, do inglês *COVID-19 Vaccines Global Access*
COVID-19	Doença do coronavírus 2019
CMs	Membranas convolutas
CpG	Região no código genético onde uma guanina segue uma citosina, ou CG
CTD1	Domínio C-terminal 1
CTD2	Domínio C-terminal 2
DC-SIGN	Do inglês *Dendritic cell-specific ICAM-grabbing non-integrin*
DEVISA	Departamento de Vigilância em Saúde
DMEM	Do inglês *Dulbecco's Modified Eagle's Medium*
DMSs	Esferas de dupla membrana abertas
DMVs	Vesículas perinucleares de dupla membrana
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRSs	Departamentos Regionais de Saúde
E	Proteína do envelope
ECA2	Enzima conversora da angiotensina 2
EPI	Equipamento de proteção individual
EUA	Estados Unidos da América
Gavi	Do inglês *Global Access Vaccine Alliance*
GISAID	Do inglês *Global Influenza Surveillance & Response System*
HC	Hospital das Clínicas da Unicamp
HR1	Sequência de repetição de heptapeptídeo 1
HR2	Sequência de repetição de heptapeptídeo 2

IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
IPVS	Índice Paulista de Vulnerabilidade Social
Kb	Quilobases
LDMAD	Laboratório de Diagnóstico Molecular de Alto Desempenho
LPC	Laboratório de Patologia Clínica
L-SIGN	Do inglês *Liver/lymph node-specific ICAM-3-grabbing non-integrin*
M	Proteína da membrana
MERS-CoV	*Middle East respiratory syndrome-related coronavirus*
MHC	Complexo Principal de Histocompatibilidade, do inglês *Major Histocompatibility Complex*
MOI	Multiplicidade de infecção, do inglês *multiplicity of infection*
mRNA	RNA mensageiro
N	Proteína do nucleotídeo
NAbs	Anticorpos neutralizantes
NFκB1	Fator nuclear kappa B subunidade 1, do inglês *nuclear fator kappa B subunit 1*
NGS	Sequenciamento de nova geração, do Inglês *Next Generation Sequencing*
NPIs	Intervenções não farmacológicas, do inglês *nonpharmaceutical interventions*
NRP1	Neuropilina 1
nsp	Proteína não estrutural, do inglês *non-structural protein*
NTD	Domínio N-terminal
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Panamericana de Saúde
ORF	Fase aberta de leitura, do inglês *open reading frame*
PFU	Unidades formadoras de placa, do inglês *plaque-forming units*
PHEIC	Sigla em inglês para Emergência de Saúde Pública de Interesse Internacional
PNI	Programa Nacional de Imunizações

pp1a	Poliproteína 1a
pp1ab	Poliproteína 1ab
PRNT	Ensaio de neutralização viral por redução de placa de lise, do inglês *plaque reduction neutralization test*
PS	Penicilina e estreptomicina
R/R_0	Número de reprodução
RE	Retículo endoplasmático
R_t	Número de reprodução em relação ao tempo
RBD	Domínio de ligação com o receptor, do inglês *receptor-binding domain*
RBM	Do inglês *receptor-binding motif*
RNA	Ácido ribonucleico
ROS	Espécies reativas de oxigênio, do inglês *Reactive Oxygen Species*
RT-PCR	Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
RT-qPCR	Reação de transcriptase reversa seguida de reação em cadeia da polimerase quantitativa
S	Proteína S, do inglês *Spike*
S1	Subunidade 1 da proteína *Spike*
S2	Subunidade 2 da proteína *Spike*
SARS-CoV	*Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus*
SARS-CoV-2	*Severe acute respiratory syndrome coronavirus* 2
SBF	Soro fetal bovino
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SE	Semana epidemiológica
sgRNAm	RNA mensageiro subgenômico
SIVEP-Gripe	Sistema de Informação da Vigilância Epidemiológica da Gripe
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo único, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*
SP	São Paulo
SRAG	Síndrome respiratória aguda grave
ssRNA	RNA de fita simples
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TIM1	Do inglês *T-cell immunoglobulin and mucin domain protein 1*
TMPRSS2	Protease serina transmembrana 2
TNF	Fator de necrose tumoral, do inglês *tumor necrosis factor*
UTI	Unidade de Terapia Intensiva
VNT	Teste de neutralização viral, do inglês *viral neutralization test*
VOC	Variante de preocupação
VOI	Variante de interesse
VUM	Variante em monitoramento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
1.1 O vírus SARS-CoV-2 20
1.2 Morfologia viral e ciclo replicativo 24
1.3 Medidas de prevenção não farmacológicas frente à COVID-19 29
1.4 Epidemiologia e dispersão do vírus no Brasil 31
1.4.1 Epidemiologia e medidas adotadas no estado de São Paulo 34
1.5 Vigilância genômica e histórico evolutivo viral 35
1.5.1 Ferramentas de vigilância genômica 38
1.6 As novas variantes do SARS-CoV-2 40
1.7 As vacinas contra a COVID-19 e os desafios frente às novas variantes 46
1.8 COVID-19: infecção aguda, infecção persistente e COVID longa 50
1.9 Reinfecções 53
1.10 Justificativa 56
2 OBJETIVOS 57
2.1 Objetivo geral 57
2.2 Objetivos específicos 57
3 MATERIAL E MÉTODOS 58
3.1 Apresentação e formatação da tese 58
3.2 Amostras biológicas, dados clínico-epidemiológicos e Comitê de Ética 58
3.3 Isolamento Viral 59
3.4 Ensaio de formação de placa de lise 60
3.5 Extração de RNA e RT-qPCR 60
3.6 Sequenciamento de SARS-CoV-2 utilizando a plataforma MinION 61
3.7 Sequenciamento de SARS-CoV-2 utilizando a plataforma Illumina 62
3.8 *Datasets* e análise filogenética 63
3.8.1 Variante Alfa (B.1.1.7) 63
3.8.2 Variante Gamma (P.1) 64
3.9 Análises epidemiológicas e geográficas 65
3.10 Teste de neutralização viral (VNT) 65
3.11 Ensaio de neutralização viral por redução de placa de lise (PRNT) 66
3.12 Imunofluorescência 66

3.13 Análises estatísticas 67
4 RESULTADOS 68
CAPÍTULO I: Epidemiologia e evolução genômica do vírus SARS-CoV-2 diante da adoção de medidas públicas de prevenção em Campinas, São Paulo, Brasil 70
Artigo 1: AMORIM, MR. *et al.* 71
Material suplementar – Artigo 1 93
CAPÍTULO II: Identificação e estudo de casos de reinfecções em profissionais da saúde e na comunidade da Unicamp 99
Artigo 2. Amorim, MR; de Souza, W *et. al* 2021 101
Material suplementar – Artigo 2 105
CAPÍTULO III: Vigilância epidemiológica, genômica e imunológica de SARS-CoV-2 após vacinação em Campinas 110
i. Neutralização da variante Gamma (P.1) por anticorpos produzidos em infecção natural ou pós vacinação 110
ii. Investigação de surtos da variante Alpha em indivíduos vacinados 111
Artigo 3. de Souza, W; Amorim, MR; Sesti-Costa, R *et. al*, 2021 112
Material Suplementar - Artigo 3 121
Artigo 4. De Souza, W; Muraro, SP; Souza, GF; Amorim, MR *et. al*, 2021 136
Material Suplementar - Artigo 4 149
Capítulo IV: Infecção persistente da variante Gamma em paciente imunocomprometido 153
Artigo 5. Sabino, J. S.; Amorim, M. R., de Souza, W. M. *et al.*, 2022 154
Material Suplementar - Artigo 5 164
5 DISCUSSÃO 167
6 CONCLUSÕES 179
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 180
8 COLABORAÇÕES DURANTE O PERÍODO 210
9 OUTRAS PRODUÇÕES 212
10 ANEXOS 214

1 INTRODUÇÃO

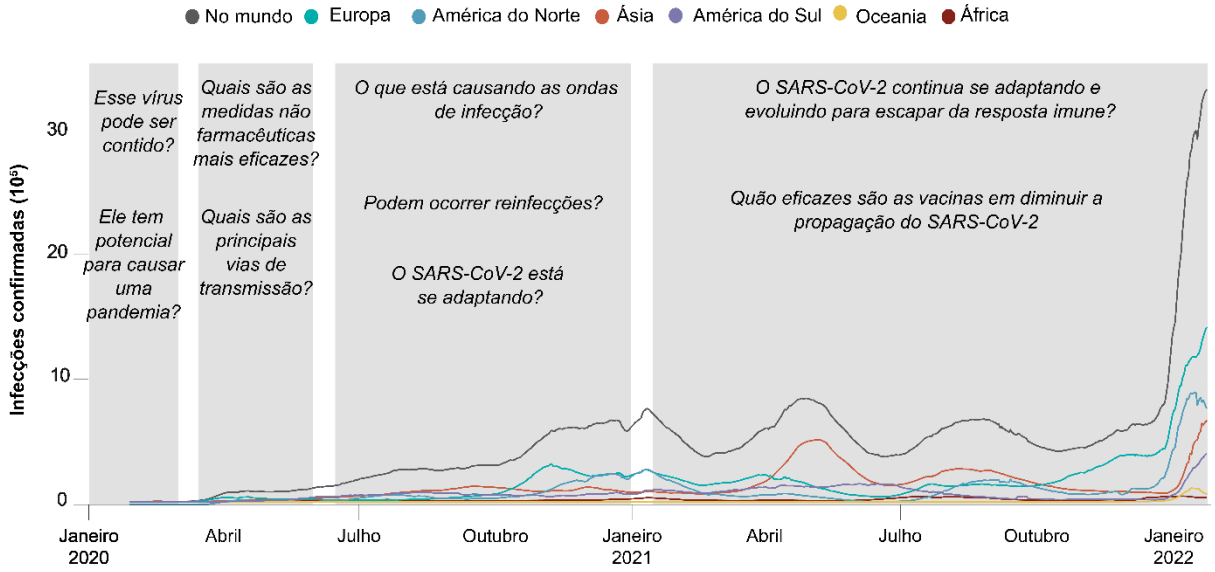
A história da humanidade é marcada por surtos e emergências de doenças infecciosas causadas por diversos patógenos, incluindo bactérias e vírus. A peste bubônica, desencadeada pela bactéria *Yersinia pestis* no século XIV, por exemplo, ceifou a vida de milhões de pessoas, enquanto outras bactérias como *Mycobacterium leprae* (hanseníase), *Mycobacterium tuberculosis* (tuberculose), *Vibrio cholerae* (cólera) e *Treponema pallidum* (sífilis) continuam impactando pessoas mundialmente (Callaway, 2015; European Centre for Disease Prevention and Control, 2023; Duggan *et al.*, 2016; Glatter e Finkelman, 2021; Peeling *et al.*, 2017).

Além das bactérias, os vírus também desempenham um papel histórico importante, e foram responsáveis por pandemias e epidemias com grande impacto clínico, social econômico e demográfico. O vírus influenza, por exemplo, foi responsável por uma das pandemias mais marcantes, a pandemia de "gripe espanhola" de 1918. A varíola, uma doença altamente contagiosa, causou epidemias devastadoras antes de ser erradicada em 1980. Outros vírus, como o HIV, Dengue, Febre Amarela, Ebola, Zika e coronavírus, têm impactado significativamente o mundo, e especialmente países em desenvolvimento (Baker *et al.*, 2022; Fauci e Lane, 2020; Centers for Disease Control and Prevention, 2023; Riedel, 2005; Thèves, Crubézy e Biagini, 2016).

Visto que o mundo atual tem como características marcantes a globalização, a alta densidade populacional, destruição de biomas e mudanças climáticas, a emergência de novos agentes infecciosos é algo previsível, sobretudo quando o contato entre os seres humanos e animais domésticos com animais silvestres se torna frequente (Baker *et al.*, 2022; Faust *et al.*, 2018; Gibb *et al.*, 2020; Jones *et al.*, 2008; Romero-Alvarez e Escobar, 2017). A presente tese aborda a pandemia de um novo coronavírus, que surgiu na China em 2019, e se destaca como um evento histórico na trajetória da humanidade. A princípio, sua capacidade pandêmica era desconhecida, mas esse novo vírus se disseminou por todos os continentes do globo, causando impactos significativos sobre a saúde humana e cenários disruptivos no âmbito econômico, político e social, um exemplo de que existem consequências para o avanço descuidado dos processos de urbanização e destruição de biomas (Gallo-Cajiao *et al.*, 2023; Keusch *et al.*, 2022).

Muitas perguntas surgiram à medida que a doença avançava e o vírus, o qual foi denominado *Severe acute respiratory syndrome coronavirus* 2 (SARS-CoV-2), evoluía. Por exemplo, “Esse vírus pode ser contido? Como?”, “Quais são as medidas não farmacêuticas mais eficazes?”, “Quais as vias de transmissão?”. Em seguida, surgiram perguntas a respeito da evolução viral e capacidade de escapar da resposta imune, como revisado por Koelle e colaboradores (Figura 1) (Koelle *et al.*, 2022).

Figura SEQ Figura * ARABIC 1 Os questionamentos e o dinamismo epidemiológico da COVID-19 ao longo do tempo



Fonte: Figura adaptada de Koelle *et al.* (2022). As infecções confirmadas são mostradas por continente, bem como em escala mundial. As barras cinzas indicam os diferentes períodos da pandemia apontados pelos autores, assim como as curvas de aumento e diminuição dos casos, e os questionamentos epidemiológicos e evolutivos que guiaram as pesquisas e tomadas de decisões por cientistas e autoridades em todo o mundo.

Um dos primeiros desafios foi o de conter a disseminação, o que está diretamente relacionado à capacidade de identificar e isolar pessoas infectadas principalmente devido aos casos assintomáticos ou pouco sintomáticos, que estariam passando despercebidos, e à capacidade de indivíduos pré-sintomáticos também transmitirem o vírus (Li *et al.,* 2020; Qiu *et al.*, 2021; Koelle *et al.*, 2022). Esforços de vigilância mostraram resultados em controlar a disseminação em países como Nova Zelândia e Vietnã em 2020 (Van Tan, 2021; Baker, Wilson e Anglemyer, 2020). No entanto, em muitos outros países, como o Brasil, a

transmissão comunitária rapidamente se intensificou (De Souza *et al.*, 2020, Koelle *et al.* 2022).

Também foi observado com o tempo, o aparecimento de fatores moleculares virais associados ao aumento da transmissão, e a capacidade do vírus de escapar da resposta imunológica, refletidos nas “ondas de infecção”, ou picos de casos em diferentes períodos após um momento de desaceleração, como mostra a figura 1 (Korber *et al.*, 2020; Thakur *et al*., 2022).

O enfrentamento da pandemia e as respostas obtidas aconteceram, em parte, devido aos avanços nas técnicas de sequenciamento de nova geração e dos estudos filogenéticos, como revisado nos tópicos a seguir. Dessa forma, acontecimentos do passado e atuais têm mostrado a necessidade da realização de estudos de vigilância genômica, juntamente com os epidemiológicos, para ajudar na prevenção e enfrentamento de doenças emergentes (Gallo-Cajiao *et al.*, 2023; Keusch *et al.*, 2022). A humanidade conseguiu obter respostas para algumas dessas perguntas, enquanto outras ainda continuam em aberto.

1.1 O vírus SARS-CoV-2

O vírus (SARS-CoV-2), agente etiológico da *Coronavirus Disease 2019* (COVID-19) foi descrito pela primeira vez em dezembro de 2019 em Wuhan, na província de Hubei, China (Wu *et al.*, 2020; Zhou *et al.*, 2020), onde foram observados casos de uma nova doença respiratória, e que rapidamente se espalhou pela população (Huang *et al.*, 2020a). No dia 30 de janeiro de 2020, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou que a COVID-19 passou a ser uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (PHEIC), após a doença alcançar mais 20 países além da China (Organização Mundial da Saúde, 2020a; Cucinotta e Vanelli, 2020).

A pandemia da COVID-19 foi oficialmente declarada em 11 de março de 2020, e se tornou um grande desafio para os sistemas públicos e privados de saúde, pela alta taxa de transmissão, lacunas do conhecimento a respeito do novo vírus, ausência de tratamentos antivirais e vacinas e transmissão por indivíduos infectados assintomáticos, tornando difícil sua contenção (Blumenthal *et al.*, 2020; Souza, de *et al.*, 2020). Ao final de 2020, mais de 79 milhões de casos de COVID-19 haviam sido reportados mundialmente, chegando a mais de 1,7 milhões de

mortes. No ano seguinte, novas ondas de infecção atingiram o mundo, relacionadas ao surgimento de novas variantes virais. Em dezembro de 2021, havia mais de 270 milhões de casos de COVID-19 confirmados em 222 países ou territórios, com mais de 5 milhões de mortes (Organização Mundial da Saúde, 2021a). O ano de 2022 foi marcado pela emergência de novas variantes, porém com uma diminuição de casos graves, um fato interessante que será discutido a seguir. Em janeiro e fevereiro de 2022, a OMS reportou cerca de 16 milhões de novos casos e 61 mil mortes, totalizando 757 milhões de casos no mundo (Organização Mundial da Saúde, 2022).

O SARS-CoV-2 pertence à família *Coronaviridae*, gênero *betacoronavirus*, subgênero Sabercovirus, e se agrupa filogeneticamente com o *Severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV) (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses, 2020), o coronavírus responsável pela epidemia com cerca de 8 mil casos de síndrome respiratória aguda grave e 774 mortes entre 2002 e 2003 em 27 países, predominantemente na Ásia . Entre 2012 e 2016, outro vírus da mesma família e gênero, o *Middle East respiratory syndrome coronavirus* (MERS-CoV), foi responsável por mais de 1.700 casos de pneumonia aguda e doença renal grave e 624 mortes na região do oriente médio, afetando 27 países (Wit *et al.*, 2016).

Também pertencem à mesma família e gênero, alguns coronavírus identificados em morcegos, como por exemplo o *Rousettus bat coronavirus HKU9*, detectado pela primeira vez na China em 2007 (Lau *et al.*, 2020). Diferentes coronavírus, entre outros vírus, vêm sendo detectados em morcegos. Estes animais têm sido alvo de estudos na busca pelo potencial hospedeiro primário do SARS-CoV-2, ou seja, o animal no qual o vírus provavelmente teve sua origem (Wardeh, Baylis e Blagrove, 2021). Indícios apontam que os vírus SARS-CoV e MERS-CoV foram transmitidos para seres humanos através de animais como civetas de palmeira asiática e camelos, respectivamente. Mas, acredita-se que ambos tiveram sua origem em morcegos, e adquiriram a capacidade de saltar entre diferentes espécies, em um processo denominado *jumping* ou *spillover* (Ruiz-Aravena *et al.*, 2022).

Muitos coronavírus estão presentes na natureza, e têm sido encontrados em morcegos em diferentes países asiáticos em estudos de vigilância. Alguns coronavírus como o RshSTT182 e RshSTT200 identificados em morcegos da

espécie *R. shameli* (Camboja em 2010) (Delaune *et al.*, 2021), e o coronavírus RacCS203 em morcegos da espécie *R. acuminatus* (Tailândia em 2020) (Wacharapluesadee *et al.*, 2021), entre outros, têm sido geneticamente relacionados ao SARS-CoV-2.

O coronavírus RaTG13 (BatCoVRaTG13), identificado pela primeira vez em morcegos da espécie *Rhinolophus affinis* na província de Yunnan em 2013, apresenta cerca de 96,1% de identidade de nucleotídeos com o SARS-CoV-2 e 92,9% de identidade com o gene S, o mais próximo geneticamente observado até então (Zhou *et al.*, 2020). Alguns coronavírus isolados de morcegos na região norte de Laos, sendo eles denominados BANAL-52, BANAL-103 e BANAL-236 também apresentaram alta similaridade com o SARS-CoV-2 sendo ainda capazes de infectar células humanas *in vitro*, utilizando o mesmo receptor celular, ECA2 (enzima conversora da angiotensina 2) que também é expressa em outros mamíferos (Temmam *et al.*, 2022; Sparrer, M. N. *et al.*, 2023). Nota-se, portanto, uma importante participação dos morcegos como reservatórios de coronavírus e a importância em realizar vigilância genômica nesses animais.

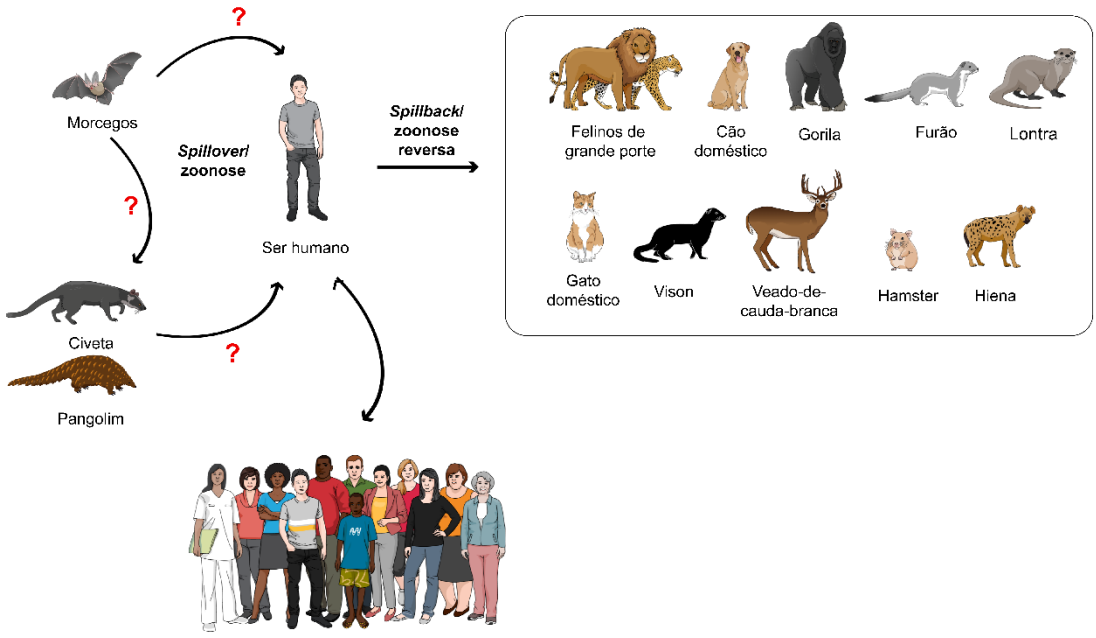
Desde o início da pandemia, muito foi especulado a respeito da origem do SARS-CoV-2. Assim como outros coronavírus, acredita-se que também houve *spillover* desse novo vírus para humanos, por volta de novembro de 2019. Amostras e dados coletados em Wuhan apontam que a maioria dos primeiros casos humanos estava associada ao Mercado de Huanan (*Huanan Seafood Wholesale Market*), onde são comercializados além de frutos do mar, uma variedade de animais silvestres e mamíferos produzidos em fazendas (Pekar *et al.*, 2022). Entre os primeiros 174 casos reportados pela OMS na província de Hubei foi possível observar uma maior densidade de casos mapeados na região central de Wuhan, próximo ao mercado, onde os pacientes residiam (Worobey *et al.*, 2022).

Desse modo, estudos indicam que a introdução de SARS-CoV-2 em humanos pode ter ocorrido através de saltos zoonóticos de animais hospedeiros intermediários, ainda não identificados em meados de novembro de 2019 (Liu *et al.*, 2023; Worobey *et al.*, 2022; Pekar *et al.*, 2022; Xiao *et al.*, 2021).Também foi possível observar que as primeiras linhagens, designadas A e B, co-circularam na região onde se encontra o mercado (Worobey *et al.*, 2022). Todavia, estudos filodinâmicos e estatísticos apontam que essas linhagens provavelmente resultaram de pelo menos dois eventos zoonóticos separados. O primeiro evento envolvendo a

linhagens B ocorreu por volta de 18 de novembro de 2019, com a introdução separada da linhagem A ocorrendo nas semanas seguintes (Pekar *et al*, 2022).

Além da sua origem, vale reportar que vários animais domésticos e silvestres se mostraram susceptíveis à infecção pelo SARS-CoV-2 e podem ser infectados através de zoonose reversa, que ocorre quando um patógeno zoonótico, ou seja, que passou pelo processo de *spillover* de animais para seres humanos, é então transmitido dos seres humanos para novos hospedeiros não humanos (Figura 2). Entre esses animais, podemos citar o vison (*Neovison vison*), o veado-de-cauda-branca (*Odocoileus virginianus*), gatos domésticos (*Felis catus domesticus*), cachorros domésticos (*Canis lupus familiaris*), felinos não domesticados (gênero *Panthera*), hamster-dourado (*Mesocricetus auratus*), entre outros. Além disso, eventos de *spillback*, que ocorre quando o patógeno que passou pelo *spillover,* volta a infectar a espécie original, favorecendo o aumento da variabilidade genética do vírus e surgimento de novas linhagens (Bashor, L. *et al.*, 2021; Nerpel, A. *et al.*, 2022, Sparrer *et al.*, 2023).

Figura 2 Vias de transmissão do SARS-CoV-2 e exemplos de infecção natural de espécies animais



Fonte: Ilustração foi construída pela autora da tese utilizando a plataforma https://mindthegraph.com/, com base na figura da revisão de literatura de Sparrer *et al.*, 2023. São mostrados exemplos de espécies de animais onde a infecção natural pelo vírus já foi documentada. As interrogações em vermelho mostram hipóteses da origem do SARS-CoV-2.

Portanto, apesar da comunidade científica ainda não ter completamente desvendado as origens desse novo vírus, evidências apontam para um possível *spillover* de animais silvestres para seres humanos (Holmes *et al.*, 2021; Lytras *et al.*, 2021). Além disso, é essencial estudar quais mamíferos podem ser infectados pelo SARS-CoV-2, a fim de ajudar a identificar a espécie de origem ou um possível hospedeiro intermediário, e acompanhar processos evolutivos (Bashor *et al.*, 2021; Nerpel *et al.*, 2022; Sparrer *et al.*, 2023).

1.2 Morfologia viral e ciclo replicativo

O SARS-CoV-2 é um vírus envelopado, cuja partícula viral, ou vírion, mede cerca de 100 nanômetros (nm), ou $1x10^{-7}$ metros, de diâmetro. Como demonstrado na figura 3, o vírion é formado pelas proteínas de envelope (E) e o envelope viral, as proteínas de membrana (M), as nucleoproteínas (N) que envolvem o genoma viral formando o nucleocapsídeo, e proteínas de superfície denominadas *Spike* (S). Seu genoma é constituído por uma fita simples de RNA de senso positivo de aproximadamente 30 quilobases (Kb), semelhante aos outros coronavírus, apresentando uma estrutura de *cap* na extremidade 5' e uma cauda poli-A na extremidade 3', semelhante a um RNA mensageiro celular (mRNA) (Laue *et al.*, 2021). O genoma do SARS-CoV-2 possui 16 ORFs (*open reading frames*), compreendidos no RNA genômico (ORF1ab) e subgenômicos (os demais ORFs), expressos por via canônica, além de estruturas não canônicas de ORFs até então desconhecidas e que podem levar a síntese de RNAs regulatórios (Kim *et al.*, 2020; Laue *et al.* 2021; Wu *et al.*, 2022).

A proteína S, é uma glicoproteína homotrimérica de fusão classe I, com habilidade de fusão de membranas, que sofre várias modificações conformacionais para que possa se ligar à proteína receptora na célula hospedeira e promover a entrada do vírus (Figura 3a) (Bosch *et al.*, 2003; Huang *et al.*, 2020b). A proteína S do possui duas subunidades: subunidade 1 (S1) e subunidade 2 (S2).

Estudos de microscopia crioeletrônica (crio-EM) e cristalografia por raios X têm auxiliado no estudo dessas estruturas, mostrando que a S1 de cada trímero apresenta quatro domínios, o amino-terminal (NTD), o domínio de legação com o receptor (RBD), e dois domínios caboxi-terminais CTD1 e CTD2 (Wrapp *et al.*, 2020; Walls *et al.*, 2020; Jackson *et al.*, 2022). Ainda, cada domínio RBD possui dois

subdomínios, sendo o RBM (*receptor-binding motif*) é a região que entra em contato com o receptor celular. A região RBD do SARS-CoV-2 além de ser uma região altamente varável, também é um dos principais determinantes antigênicos, alvo de anticorpos neutralizantes (NAbs) (Piccoli *et al.*, 2020, Wrapp *et al.*, 2020; Walls *et al.*, 2020). Já a S2, participa do processo de fusão com a membrana celular, onde está localizado o peptídeo de fusão, e outras regiões importantes para o processo, como o HR1 e HR2 (*heptapeptide repeat sequence,* 1 e 2), o domínio transmembrana (TM) e o domínio de citoplasma (Wrapp *et al.*, 2020; Walls *et al.*, 2020; Huang *et al.*, 2020b).

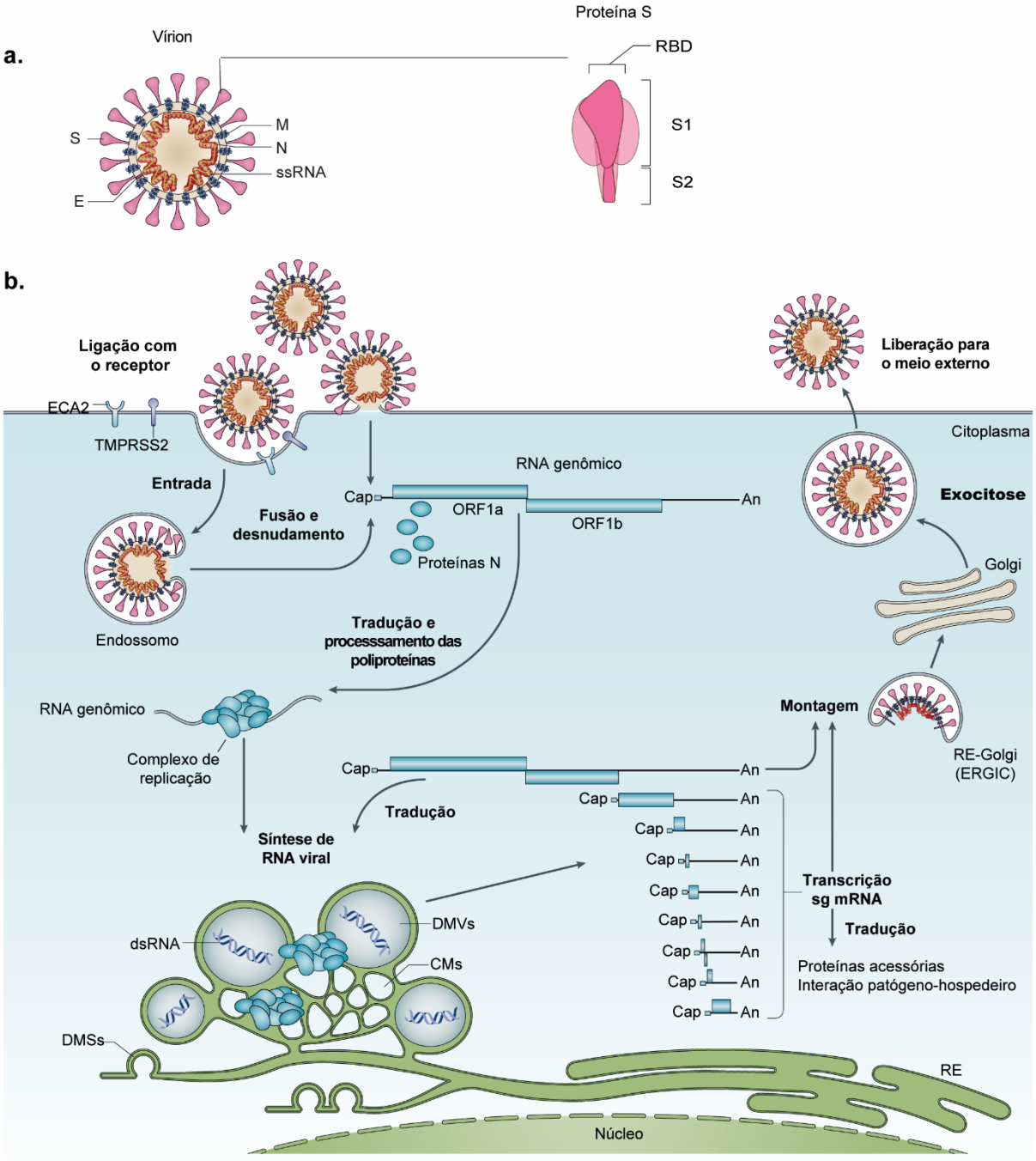
O processo de entrada do vírus na célula hospedeira envolve, primeiramente, a ligação da proteína S viral com um receptor celular. O principal receptor descrito para o SARS-CoV-2 é a enzima conversora da angiotensina 2 (ECA 2 ou ACE2, do Inglês *angiotensin-converting enzyme* 2) (Shang *et al.*, 2020; Lan *et al.,* 2020), a qual pode ser expressa por células alveolares do tipo II (pneumócitos) no trato respiratório inferior, e abundantemente expressa em células ciliadas do epitélio brônquico superior e no epitélio nasal, que são sítios primários de infecção (Hou, *et al.*, 2020, Jackson *et al.*, 2022). Além do trato respiratório, já foi demonstrado a expressão da ECA2 em outras regiões do corpo, como tecido muscular cardíaco, intestino delgado, cólon, rins, testículos, tecido adiposo, tecido mamário, glândula salivar e glândula tireoide (Wang *et al.,*2020).

Outras moléculas com potencial de atuação na entrada do SARS-CoV-2 têm sido estudadas como receptores alternativos, como revisado por Jackson e colaboradores (2022), entre elas as lectinas do tipo C, DC-SIGN (*DC-specific ICAM-grabbing non-integrin*) e L-SIGN (*Liver/lymph node-specific ICAM-3-grabbing non-integrin*) capazes de reconhecer glicanos na superfície de diversos patógenos e promover adesão à superfície celular. Receptores das famílias de fosfatidilserinas como TIM1 (*T-cell immunoglobulin and mucin domain protein 1*) e o receptor AXL tirosina quinase aumentam a capacidade de alguns vírus se ligarem a membrana celular através do reconhecimento de fosfatidilserina no envelope viral. Além disso, foi observado que a neuropilina 1 (NRP1), expressa em células epiteliais olfativas e respiratórias, foi capaz de facilitar a entrada mediada por protease serina transmembrana 2 (TMPRSS2) *in vitro* (Cantuti-Castelvetri *et al.*, 2020; Jackson *et al.*, 2022). Daly e colaboradores, por exemplo, demonstraram que o fragmento S1 da proteína S, quando clivado pela furina, pode se ligar diretamente à superfície celular

NRP1, e ao inibir essa interação, a infecção viral em cultura de células é reduzida (Daly *et al.,* 2020).

Para que ocorra a entrada, é necessário que ocorram dois eventos de clivagem. O primeiro ocorre quando a partícula viral está sendo liberada da célula hospedeira, em um processo de maturação viral. Para que este se torne infectivo, ocorre a clivagem de um sítio específico localizado na região de junção das subunidades S1 e S2 por proteases celulares, como a furina. O segundo evento acontece no momento da infecção, onde após a ligação com o receptor, ocorrem mudanças conformacionais na S1 e exposição do sítio de clivagem da S2. Na presença de proteases celulares como a TMPRSS2 na membrana celular, estas clivam o sítio S2 para que haja exposição do peptídio de fusão (Huang *et al.*, 2020b). Porém, na ausência de tais proteases, ou expressão insuficiente destas, o vírus pode ser internalizado via endocitose mediada por clatrina em endolisossomos, onde o pH acidificado permite a clivagem da subunidade S2 por catepsinas celulares para a exposição do peptídeo de fusão (Bayati *et al.*, 2021).

Figura 3 Morfologia e ciclo replicativo dos coronavírus



Fonte: Ilustração adaptada de V'koviski *et al.* (2021), onde foi adicionado a estrutura da proteína Spike. Ilustração da partícula viral, ou vírion, onde são mostradas as proteínas N = proteína do nucleocapsídeo, S = Spike, M = proteína da membrana, E = proteína do envelope, e o nucleocapsídeo formado por proteínas N envolvendo o RNA de fita simples (ssRNA) viral. Representação da proteína Spike e suas subunidades S1 = subunidade 1, que contém a região RBD = *Receptor Binding Domain*, e a S2 = subunidade 2. b. Ciclo replicativo dos coronavírus, de V'koviski *et al.* (2021) com adaptações. O vírion se liga a uma proteína receptora na superfície celular, como a ECA2, com a participação de proteases celulares como a TMPRSS2, para que ocorra a entrada da partícula através da fusão do envelope com a membrana celular. Após a entrada, ocorre o desnudamento, com a liberação e do RNA genômico que já pode ser traduzido originando as poliproteínas as quais são processadas co-traducional e pós-traducionalmente nas proteínas não estruturais que formam o complexo de replicação e transcrição viral. Concomitantemente ocorre a

biogênese de organelas de replicação viral consistindo em vesículas perinucleares de dupla membrana (DMVs), membranas convolutas (CMs) e pequenas esferas de dupla membrana abertas (DMSs), criando um microambiente protetor para a replicação do RNA genômico viral e transcrição de mRNAs subgenômicos (sg mRNAs). As proteínas estruturais traduzidas translocam-se para as membranas do retículo endoplasmático (RE) e transitam pelo compartimento intermediário RE-Golgi (ERGIC), onde a montagem de novas partículas, seguido pelo brotamento para o meio extracelular via exocitose. An = sequência poli-A 3'; Cap = estrutura de capuz 5'; dsRNA = RNA de fita dupla.

Após a entrada, o RNA viral é traduzido, e são produzidas as poliproteínas pp1a e pp1ab a partir das regiões ORF1a e ORF1b, as quais serão processadas, originando as proteínas nsps que formam o complexo de replicação e transcrição viral, como a RdRp, a Hel e a 3CL protease. Concomitantemente, ocorre a biogênese das organelas de replicação viral a partir do retículo endoplasmático (RE), também chamadas de “fábricas virais”, formadas por vesículas perinucleares de dupla membrana (DMVs), membranas convolutas (CMs) e pequenas esferas de dupla membrana abertas (DMSs), como mostrado na figura 3, adaptada de V’koviski *et al.* (2021).

Dessa forma, é criado um microambiente protetor para replicação do RNA genômico viral e transcrição de RNAs subgenômicos (sgRNAm) para a tradução das demais proteínas estruturais e proteínas não estruturais (nsps) que participam do ciclo replicativo viral e evasão da resposta imune inata da célula. As proteínas estruturais expressas via sgRNAm são S, E, M e N (Wolff *et al.*, 2020; Kim *et al.*, 2020; Laue *et al.*, 2021, V’koviski *et al.*, 2021) (Figura 3).

Alguns estudos indicam que a infecção pelo SARS-CoV-2, induz desbalanço do fluxo autofágico celular, havendo estímulo para a produção de moléculas importantes para a formação do autofagossomo, acúmulo dessas estruturas no citoplasma celular, e interrompimento do processo de fusão do autofagossomo com o lisossomo (Miao *et al.*, 2021; Zhang *et al.*, 2021; Gassen *et al.*, 2021; Zambalde *et al.,* 2023; Hou *et al.*, 2023). A autofagia é um processo que contribui com a homeostase celular onde ocorre a formação dos autofagossomos, seguido da fusão destes com os lisossomos, promovendo a degradação tanto de componentes celulares para reciclagem, quanto de vírus e bactérias ou de seus componentes (Levine e Kromer, 2019). A interferência nesse processo em uma célula infectada, além de evitar a degradação do vírus, favorece a replicação viral uma vez que moléculas como PIP3, que é essencial na formação do autofagossomo e cuja expressão é aumentada em células infectadas pelo vírus, também atua na formação de DMVs (Twu *et al.*, 2021).

As proteínas estruturais traduzidas seguem para o retículo endoplasmático celular (ER) e transitam pelo compartimento intermediário ER-Complexo de Golgi (ERGIC), onde irão interagir com o RNA genômico viral recém-produzido e envolto pelas proteínas N, formando novas partículas envelopadas, que seguem para o complexo de Golgi, e são secretadas via exocitose (V'koviski *et al.*, 2021) (Figura 3b). Estudos apontam que alguns betacoronavírus, inclusive o SARS-CoV-2, são liberados para o meio extracelular mesmo que a via biossintética de exocitose se encontre bloqueada, e evidenciam a utilização da via lisossomal de exocitose após passar pelo Golgi. Nesse processo ocorre desacidificação do pH lisossomal e desativação de enzimas lisossomais que poderiam danificar as partículas, as quais são liberadas da célula sem que ocorra lise da membrana plasmática (Ghosh *et al.*, 2020; Mendonça *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2021).

Para a manutenção do seu longo genoma de RNA, os coronavírus possuem uma atividade de *proofreading*, ou seja, de correção de erros, ou mutações, que podem acontecer durante a replicação do genoma. Essa atividade é exercida pela exoribonuclease (ExoN) da proteína viral nsp14, uma característica incomum nos vírus de RNA (Sevajol *et al.*, 2014). Todavia, o grande número de pessoas susceptíveis e a velocidade de disseminação do SARS-CoV-2, acabou favorecendo a manutenção de mutações no genoma viral, e a seleção de variantes que carregam conjuntos de mutações em seu genoma. Mutações na RBD da proteína S têm sido associadas ao aumento da transmissibilidade, virulência e a evasão de componentes do sistema imune como os NAbs (Faria *et al.*, 2021; Harvey *et al.*, 2021; Justo Arevalo *et al.*, 2021; Plante *et al.*, 2021).

1.3 Medidas de prevenção não farmacológicas frente à COVID-19

Após o reconhecimento da COVID-19 como PHEIC e diante da iminência de uma doença que poderia atingir níveis globais, a OMS comunicou algumas medidas estratégicas de prevenção que poderiam ser adotadas pelos países. Entre elas, evitar a transmissão entre seres humanos e dispersão da doença através da rápida identificação e isolamento dos casos; incentivo a parcerias entre países a fim de acelerar a pesquisa e desenvolvimento de terapias, vacinas e métodos de diagnóstico; além da comunicação e combate à desinformação (Cucinotta e Vanelli, 2020; Organização Mundial da Saúde, 2021b).

Para minimizar a dispersão da doença, o número de casos e a sobrecarga dos serviços de saúde, passaram a ser adotadas algumas medidas de prevenção como as não-farmacológicas, também conhecidas como NPIs (devido ao termo em inglês *Nonpharmaceutical Interventions*) as quais abordam tanto ações governamentais quanto comportamentais de uma população. Algumas NPIs contra a COVID-19 incluíram quarentena, restrições no transporte e viagens, isolamento social, cancelamento de eventos com grande aglomeração de pessoas, fechamento de escolas, trabalho remoto, uso de máscaras e higiene pessoal (Perra, 2021).

A quarentena pode ser definida como o isolamento de pessoas ou animais que tenham sido expostos a um agente infeccioso com risco de infecção, e de pessoas que foram infectadas e podem transmitir a doença para outras pessoas e ou animais, em um determinado local por um período de tempo, a fim de conter a dispersão do agente infeccioso (Gensini, Yacoub e Conti, 2004). Vários países entraram em quarentena, alguns outros como China, Filipinas, Itália, Nova Zelândia e África do Sul chegaram a adotar medidas estritas como o *lockdown (Bouman, Steg e Dietz, 2020)*. O *lockdown* constitui um conjunto de medidas impostas por governos e autoridades sobre a população frente a ameaças de doenças infecciosas, que podem incluir NPIs como toque de recolher, cancelamento de eventos com aglomeração de pessoas, trabalho remoto, restrições de viagens e no transporte, e isolamento social. Todas as medidas supracitadas são consideradas importantes principalmente quando ainda não existem vacinas, a transmissão é intensa, o número de casos é elevado, e é necessário tempo para o desenvolvimento de tratamentos e políticas de prevenção (Bouman, Steg e Dietz, 2020; Gensini, Yacoub e Conti, 2004; Woc-Colburn e Godinez, 2022).

No Brasil, as NPIs adotadas foram, por exemplo, distanciamento social, fechamento do comércio considerado não-essencial, o fechamento de escolas e universidades, higienização das mãos, e uso de máscaras de proteção. Tais medidas de proteção passaram a ser adotadas em março de 2020, sendo que o uso obrigatório de máscaras foi adotado em diferentes momentos nos estados brasileiros, até que passou a ser obrigatório em todos os estados, em locais públicos e privados, a partir de 19 de agosto de 2020 (Fracalossi de Moraes *et al.*, 2022).

Estudos têm mostrado que a efetividade de NPIs depende do momento em que são implementadas, da sua duração e adesão da população (Banholzer *et al.*, 2022; Lison *et al.*, 2023). O fechamento de escolas, por exemplo, mostrou ter um

importante efeito na diminuição da dispersão da COVID-19. Porém foi uma medida adotada quando a primeira onda de casos já estava acontecendo, portanto, os efeitos na diminuição da taxa de transmissão foram observados mais tardiamente (Agyapon-Ntra e McSharry, 2023). Além disso, avaliar a efetividade individual de uma NPI, como o uso de máscaras, por exemplo, é de difícil acesso, visto que na maioria das vezes as NPIs foram adotadas em conjunto (Lison *et al.*, 2023).

Em um estudo realizado por Moraes e colaboradores, reunindo dados dos 27 estados brasileiros, foi possível observar que os níveis de distanciamento social dependem de fatores como o rigor das regras de distanciamento, sua duração, adesão e a obrigatoriedade do uso de máscaras. Foi demonstrado que quanto maior o rigor das regras, maiores as taxas de distanciamento social observadas. Porém, quanto mais prolongavam-se os períodos de duração das regras, as taxas de distanciamento social diminuíram, sendo levantada a hipótese do que ficou conhecido como fadiga pandêmica, que seria uma redução gradativa da aderência das pessoas às NPIs, desmotivação em procurar informações, envolvendo uma variedade de emoções, contextos sociais e políticos (Fracalossi de Moraes *et al.*, 2022).

1.4 Epidemiologia e dispersão do vírus no Brasil

O sistema público de vigilância e-SUS Vigilância Epidemiológica foi utilizado para reportar casos leves de COVID-19 no Brasil, e os casos mais graves foram reportados através do Sistema de Informação de Vigilância Epidemiológica da Gripe (SIVEP-Gripe), incluindo casos confirmados e suspeitos de COVID-19 (Candido *et al.*, 2020; Souza, de *et al.*, 2020). Os primeiros sequenciamentos realizados no Brasil ocorreram entre fevereiro e março de 2020, onde foram identificados genomas similares aos que estavam circulando na Itália naquele momento (Jesus *et al.*, 2020). Estima-se que houve ao menos 100 introduções de SARS-CoV-2 entre o final de fevereiro e início de março de 2020 no Brasil, principalmente através de grandes centros urbanos e aeroportos internacionais, como São Paulo, Rio de Janeiro, Belo Horizonte e Fortaleza, onde a linhagem B (clado G) foi a mais prevalente (Candido *et al.*, 2020).

Nesse mesmo período, foi estimado R próximo a 1 nas grandes capitais São Paulo e Rio de Janeiro, quando as medidas de prevenção e isolamento social

passaram a ser adotadas (Candido *et al.*, 2020). O R, ou R_0, é uma medida adotada na Epidemiologia para indicar o grau de transmissibilidade e contágio de um agente infeccioso em uma determinada população. Se R for maior do que 1, significa que uma pessoa está transmitindo o vírus para, em média, mais de uma pessoa e espera-se, assim, que o surto da doença continue. Entretanto, quando o valor de R cai para valores menores do que 1, espera-se que a velocidade de disseminação do vírus diminua e que o surto caminhe para seu término (Delamater *et al.*, 2019).

Algumas medidas como distanciamento social foram importantes para diminuição do R_t (valor de R em relação ao tempo) em alguns países entre março e abril de 2020. Apesar destas e entre outras intervenções implementadas no Brasil, a transmissão do vírus pelo país diminuiu para valores de R próximos de 1, mas continuou avançando nesse período (Souza, de *et al.*, 2020). Pode-se apontar como um dos fatores que contribuíram com esse avanço, o acesso restrito ao diagnóstico laboratorial nos primeiros meses de pandemia e diferenças socioeconômicas, além da não adesão às NPIs. Foi observado na região metropolitana de São Paulo, por exemplo, que a população com maior renda per-capita teve mais acesso ao diagnóstico laboratorial de COVID-19 comparado com a população de menor renda, demonstrando um fator socioeconômico associado aos números de casos confirmados, e possivelmente uma subnotificação de casos no início da pandemia no país (Souza, de *et al.*, 2020).

Diferenças inter-raciais, juntamente com diferenças socioeconômicas, mostraram-se importantes em relação ao número de óbitos. No Brasil, medidas mais drásticas como o *lockdown* foram adotadas em pouquíssimos locais de maneira correta e rigorosa, levantando dúvidas se realmente houve *lockdown* em algum momento. Portanto, ao longo dos últimos anos de pandemia, pode-se concluir que a eficiência das NPIs adotadas mundialmente dependeu de fatores intrínsecos de cada país e território, e do período ou momento em que foram implementadas (Fracalossi de Moraes *et al.*, 2022; Souza, de *et al.*, 2020).

Em agosto de 2020, o Brasil foi o segundo país com maior número de casos no mundo (com mais de 3,8 milhões de casos), atrás apenas dos Estados Unidos (EUA), com mais de 5,8 milhões de casos reportados nesse período (Organização Mundial da Saúde, 2020b).

Um estudo que avaliou os primeiros 250.000 pacientes admitidos em hospitais devido à COVID-19 em 2020, foram observadas diferenças na

caracterização e evolução da doença entre pacientes admitidos em hospitais do sistema único de saúde (SUS) nas diferentes regiões do Brasil, de acordo com dados coletados no SIVEP-Gripe. Nas SEs 19 a 22 de 2020, a maior parte dos casos foram reportados nas regiões Norte, Nordeste e Sudeste, e se ampliaram para as regiões Sul e Centro-oeste a partir das SEs 27 a 30. Dos dados disponíveis, foi observada uma taxa de mortalidade de 38% entre os pacientes que precisaram de internação. De fevereiro a agosto de 2020, a porcentagem de pacientes diagnosticados por RT-qPCR, que precisou de ventilação mecânica invasiva fora das Unidades de Terapia Intensiva (UTI) foi maior na região Nordeste do Brasil (16%) em comparação com a região Sul (8%), assim como o índice de mortalidade de pacientes com idade menor que 60 anos, internados em hospitais da rede pública, 31% no Nordeste e 15% no Sul do Brasil (Ranzani *et al.*, 2021).

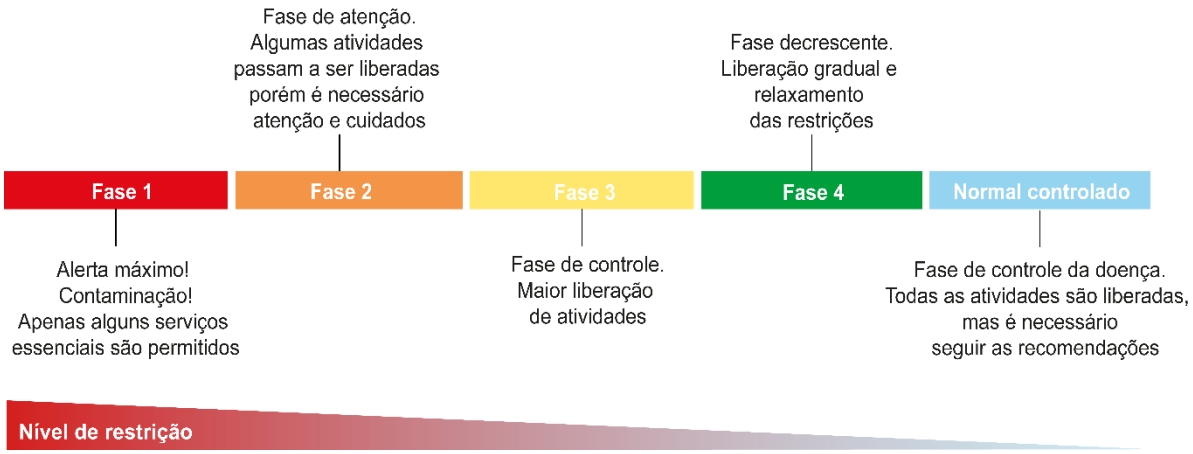
O número de novos casos continuou aumentando mundialmente, chegando a 150 milhões no começo de maio de 2021, e 3 milhões de óbitos. Nesse período o Brasil, havia passado dos 14 milhões de casos acumulados (representando cerca de 9,33% do número de casos reportados do mundo) (Conselho Nacional de Secretários de Saúde, 2023). Os dias que compreenderam as semanas epidemiológicas 11 a 18 de 2021 foram emergenciais e de grande dificuldade para os profissionais da saúde e para a população, uma vez que nesse período houve um pico no número de novos óbitos reportados, chegando a atingir o maior número registrado no país entre os dias 4 de abril a 10 de abril, semana epidemiológica (SE) 14 (21.141 novos óbitos) apenas nesta semana. A emergência de novas variantes virais pode ter contribuído com essa fase da pandemia, que será abordado mais adiante no texto. Ao final de 2021 o estado de São Paulo, o mais populoso do Brasil (~46.649.132 de habitantes), atingiu 4,45 milhões de casos acumulados (SE 52) (São Paulo, 2023; Conselho Nacional de Secretários de Saúde, 2023).

De setembro a dezembro de 2021, foi observado uma baixa incidência de casos e óbitos no Brasil, voltando a aumentar em janeiro de 2022, e atingindo o maior pico em fevereiro, na SE 04 de 2022, com cerca de 1,3 milhões de novos casos. Nesse mesmo período, o número de óbitos chegou a 6.246 na SE 06, um número quase 4 vezes menor que o pico de óbitos reportado em 2021. Mais dois picos foram observados em junho e dezembro de 2022, porém com menor letalidade (Conselho Nacional de Secretários de Saúde, 2023).

1.4.1 Epidemiologia e medidas adotadas no estado de São Paulo

No estado de São Paulo (SP), o número de casos confirmados de COVID-19 chegou a 140 mil até maio de 2020 (São Paulo, 2023). O governo de SP passou a adotar, no dia 1 de junho de 2020, a partir do Decreto 64,994 de 28 de maio de 2020, um plano de reabertura do comércio durante a quarentena, com cinco níveis de restrição previamente definidos, e adotados de acordo com critérios clínicos, epidemiológicos e socioeconômicos reportados por cada região incluída no plano, as 17 regiões dos DRSs (Departamentos Regionais de Saúde). O plano SP foi elaborado por especialistas do Centro de Contingência do Coronavírus e do Comitê Econômico Extraordinário, sendo que a implementação das fases de reabertura (Figura 4), assim como a fiscalização das atividades, e discussões sobre características locais, envolveram também prefeitos e representantes de associações comerciais e empresariais (Governo do Estado de São Paulo, 2020; Gori Maia *et al.,* 2021; São Paulo, 2023).

Figura 4 Fases de reabertura do comércio determinadas no Plano São Paulo



Fonte: Figura adaptada de https://www.saopaulo.sp.gov.br/wp-content/uploads/2020/08/PlanoSP-apresentacao-v2.pdf, acesso em 4 de outubro de 2023.

As fases do plano SP incluíram medidas que variaram das mais restritas às menos restritas, constituindo os cinco níveis de reabertura econômica: a) vermelho, ou fase emergencial, com nível máximo de restrição das atividades definidas como “não-essenciais”; b) laranja, ou fase de controle, com liberações eventuais; c) amarelo, ou fase de flexibilização; c) verde, ou fase de abertura parcial;

d) e azul, ou fase de normal controlado, com liberação de todas as atividades, porém com fiscalização (Figura 4). (Gori Maia *et al.*, 2021; Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2020).

A cidade de Campinas, a terceira mais populosa de São Paulo (1.139.047 milhões de habitantes) (IBGE, 2022), e importante centro urbano de comércio, educação, pesquisa e desenvolvimento, também reportou aumento no número de novos óbitos em março de 2021, com o maior número de internações nesse mês. Foram reportados um total de 147.302 casos acumulados ao final de 2021, e 4.633 óbitos (Campinas, 2021; São Paulo, 2023).

No final de 2021, a média móvel de casos por dia no Brasil e no mundo havia diminuído, principalmente em locais onde as campanhas de vacinação obtiveram maior alcance (Organização Mundial da Saúde, 2021a). Contudo, a média móvel voltou a subir, juntamente com os casos detectados da nova variante Ômicron em diversos países no final de 2021 e começo de 2022. A nova VOC, descoberta em novembro de 2021, se dispersou rapidamente, atingindo 149 países em janeiro de 2022 e substituindo 99% das sequências depositadas no GISAID (do inglês *Global Influenza Surveillance & Response System*) de todas as outras variantes na primeira semana de 2022 (Organização Mundial da Saúde, 2022; Desingu e Nagarajan, 2022; Karim e Karim, 2021).

1.5 Vigilância genômica e histórico evolutivo viral

Em 2 anos de pandemia, o SARS-CoV-2 já apresentava um longo histórico evolutivo. A princípio, foi observado que a disseminação do vírus no início da pandemia teve momentos de rápido aumento do *fitness* e evolução viral, relacionado a replicação, concomitante com aumento do número de casos, sendo também observadas variações no *fitness* epidemiológico, evidenciado nas ondas de infecção durante a pandemia (Obermeyer *et al.*, 2022; Plante *et al.*, 2021; Sabino *et al.*, 2021). O termo *fitness* vem do Inglês, e significa "aptidão" ou "competência". Na virologia, o *fitness* viral é utilizado como uma forma de mensurar adaptação viral, e pode ter diferentes abordagens (Domingo *et al.*, 2019). Por exemplo, o *fitness* replicativo viral, é a aptidão do vírus em se replicar no hospedeiro e produzir mais partículas infecciosas, podendo estar relacionado ao aumento da transmissão e capacidade de evasão da resposta imune. Já o *fitness* epidemiológico aborda a

capacidade do vírus em se tornar dominante em relação a outro sorotipo ou variante viral (Domingo, 2010; Domingo *et al.*, 2019).

Um estudo utilizando 6,4 milhões de genomas depositados no GISAID até janeiro de 2022, permitiu identificar mutações associadas ao aumento de *fitness* e mostra que as linhagens virais do SARS-CoV-2 têm uma modesta tendência ascendente ao longo do tempo, até que são interrompidas por outras linhagens ascendentes e com maior *fitness*, maior aptidão em infectar e se disseminar na população, contribuindo com o processo evolutivo do vírus como tem sido observado nas ondas de infecção ao longo dos anos da pandemia da COVID-19 (Obermeyer *et al.*, 2022).

As flutuações na capacidade de transmissão viral, *fitness*, evasão da resposta imune e patogenicidade podem ser, em parte, consequência do aparecimento de mutações no genoma do vírus. Algumas dessas mutações possuem alta frequência, sendo identificadas em diversos genomas sequenciados por todo o mundo, como a D614G, que sozinha foi capaz de alterar os *fitness* virais e promover maior dispersão do vírus no início da pandemia (Plante *et al.*, 2021). Dessa forma, mutações na região codificadora da proteína S são preocupantes, uma vez que podem ser determinantes para o surgimento de variantes virais de preocupação (VOCs), variantes de interesse (VOIs) e variantes sob monitoramento (VUMs), classificações adotadas pela OMS como descrito adiante no texto (Organização Mundial da Saúde, 2023).

As mutações que podem promover vantagens biológicas para o vírus como a D614G, são uma minoria em comparação com outras mutações neutras ou que podem resultar no desaparecimento da cepa ou variante (Harvey *et al.*, 2021). Foram observadas diversas modificações na proteína S associadas a um aumento da aptidão viral. Porém, mutações em outros genes como ORF1a, ORF9b, M, N e E, também mostraram ser importantes no processo evolutivo do vírus, em ao menos 5 diferentes linhagens (Obermeyer *et al.*, 2022).

Na pandemia da COVID-19 milhares de sequências de genomas virais que passaram a ser obtidos em larga escala através de diferentes técnicas de sequenciamento e puderam ser utilizadas por cientistas para acompanhar as taxas de mutações no genoma do SARS-CoV-2 e sua evolução. A princípio, foi estimado uma taxa de aproximadamente 2 a 3 mutações a cada mês, ou $1x10^{-3}$ substituições por site por ano (Sender *et al.*, 2021). A taxa de $8x10^{-4}$ substituições por site por ano

tem sido utilizada em análises temporais com base nos dados e metodologias da plataforma Nextstrain (http://nextstrain.org) (Dellicour *et al.*, 2021).

Também foi observado que no SARS-CoV-2, assim como em outros coronavírus, independente da linhagem viral ou do hospedeiro, ocorrem com maior frequência as substituições de transição de citosina (C) para uracila (U), e de transversão de guanina (G) para uracila (U), o que consequentemente afeta a quantidade de CpG no genoma viral. Tal característica pode estar associada ao processo de evolução do vírus em resposta a pressões do ambiente, como a ação de espécies reativas de oxigênio (ROS), citosina desaminases celulares, com destaque para as enzimas da família APOBEC (*Apolipoprotein B mRNA Editing Catalytic polypeptide-like*), e adenosina desaminases (ADAR) (Schmidt *et al.*, 2021; Graudenzi *et al.*, 2021; Forni *et al.*, 2022).

Por fim, análises do proteoma viral, do SARS-Cov-2 e outros vírus, mostram que as taxas de mutações são heterogêneas e podem variar de acordo com propriedades físico-químicas intrínsecas do genoma e proteínas virais, sendo possível classificar regiões do genoma que teriam maior ou menor chance de sofrer mutações, somado às pressões seletivas do ambiente (Rawat *et al.*, 2022).

Além de mutações, outros eventos estão associados ao aumento da variabilidade genética e evolução dos vírus de RNA, como recombinações e rearranjos gênicos. Tais eventos podem ocorrer quando um indivíduo é infectado por duas ou mais linhagens da mesma espécie em uma co-infecção, e esses vírus infectam a mesma célula hospedeira, sendo que nos eventos de recombinação nos vírus de RNA de fita simples ocorre a formação de uma molécula de RNA quimérica, de origem mista. Ou seja, um novo genoma. Nos coronavírus, como os betacoronavírus, eventos de recombinação gênica têm sido estudados a fim de entender sua história evolutiva e identificar características fenotípicas com potencial infectivo de risco para a saúde humana e animal (Simon-Loriere e Holmes, 2011; Turakhia *et al.*, 2022). Casos de pessoas infectadas por mais de uma linhagem do SARS-CoV-2 foram reportados, assim como o surgimento de linhagens recombinantes ao longo da pandemia (Gutierrez *et al.*, 2022; Jackson *et al.*, 2021; Taghizadeh *et al.*, 2021).

1.5.1 Ferramentas de vigilância genômica

A importância da vigilância genômica tem sido demonstrada ao longo dos anos, como revisado por Hill *et al.* (2023). Antes da era dos sequenciamentos de nova geração (NGS, do Inglês *Next Generation Sequencing*), o estudo genômico do patógeno não era possível de ser realizado em tempo real. Com o advento das tecnologias de NGS, isso passou a ser possível, como por exemplo o estudo da origem e evolução genômica do vírus Influenza A H1N1 em 2009 (Smith *et al.*, 2009; Hill *et al.*, 2023). Em 2014, a nova tecnologia desenvolvida pela Oxford Nanopore Technologies (ONT) denominada MinION, a qual se destacou principalmente por sua portabilidade e acessibilidade, ajudou a desvendar a filodinâmica do vírus Ebola em surtos na Guiné, permitindo a realização de vigilância genômica em tempo real e com poucos recursos (Quick *et al.,* 2016; Hill *et al.*, 2023). Além disso, sequenciamentos de rotina do HIV são importantes para acompanhar a evolução viral e resistência aos tratamentos, e os sequenciamentos de Poliovírus nos casos de poliomielite também são importantes para identificar novas introduções e direcionar recursos de saúde e campanhas de vacinação, por exemplo (Hill *et al.*, 2023).

A vigilância genômica tem sido essencial no monitoramento da evolução do SARS-CoV-2 e para guiar as intervenções públicas a fim de diminuir a transmissão do vírus na população (Candido *et al.*, 2020; Faria *et al.*, 2021; Hamed *et al.*, 2021). Em todo o mundo, mais de 15 milhões de genomas de SARS-CoV-2 já foram sequenciados e depositados na plataforma GISAID que também utiliza os dados depositados para fazer um estudo em tempo real das mutações mais frequentes nos genomas, e classifica em diferentes clados, como por exemplo os clados L, S, V, G, GH, GV, GS , GRY e GRA (Shu e McCauley, 2017).

A classificação de vírus pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus, ou ICTV (do inglês *International Committee on Taxonomy of Viruses*), não aborda conceitos além do nível de espécie, não havendo uma normativa para classificar a diversidade genética entre as espécies. Dessa forma, grupos monofiléticos e polifiléticos geralmente são classificados em “clados” ou “genótipos”. Segundo Rambaut e colaboradores (2020), a classificação em clados geralmente reflete uma tentativa de agrupamento, com base na filogenia e diversidade genética dos genomas virais e análises estatísticas, formando grupos aproximadamente

divergentes e mutuamente exclusivos (Rambaut *et al.*, 2020). No GISAID, os clados são informados a partir da distribuição estatística das distâncias entre os genomas em grupos filogenéticos ou *clusters* (grupos), juntando pequenos grupos de linhagens em um só grande clado, com base em características genômicas marcantes em comum (Hamed *et al.*, 2021; Han *et al.*, 2019).

O primeiro genoma de SARS-CoV-2 obtido (GenBank acesso NC_045512, GISIAD ID: EPI_ISL_402124) pertence ao clado L, e é usado como genoma de referência. O clado S emergiu na mesma época que o L, e inclui a mutação L84S na proteína NS8. Já o clado L inclui as mutações L37F na NSP6 e G251V. O clado G inclui a mutação D614G na proteína S e evoluiu a partir do clado L. Os seguintes, GH, GR e GV, evoluíram a partir do G, e além da mutação D614G em comum, também incluíram as mutações Q57H na NS3, G204R na N, e A222V na S, respectivamente. O GRY, que surgiu a partir do GR, inclui deleções na proteína S (S-H69del, S-V70del, S-Y144del) por exemplo, e as mutações N501Y na S e G204R na N. Em 2021, o GISAID incluiu os clados GK, ao qual pertence a variante Delta e sublinhagens, e o GRA ao qual pertence a nova variante Ômicron e suas diversas sublinhagens, que possuem um conjunto de mutações abrangente, chegando a mais de 30 mutações em algumas linhagens, como a primeira linhagem reportada B.1.1.529, a BA.2 e a BA.4 (GISAID, [s.d.]; Liu, X. *et al.*, 2022; Shu e McCauley, 2017).

Outra ferramenta de grande utilidade é a plataforma Pangolin (*Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak Lineages, Pango lineage*), para classificação de linhagens através de um sistema dinâmico como proposto por Rambaut e colaboradores (2020), robusto o suficiente para acomodar as milhares de sequências sendo geradas diariamente, cujo sistema de nomenclatura é focado em variações genéticas que estejam associadas a fatores biológicos e epidemiológicos importantes. A classificação das linhagens pelo Pangolin tem sido muito utilizada para o acompanhamento genômico epidemiológico do vírus mundialmente, e facilita a diferenciação e classificação de vírus que evoluem rapidamente como o SARS-CoV-2 (Rambaut *et al*., 2020).

Por fim, as ferramentas oferecidas pelo Nextstrain.org são uma alternativa amplamente utilizada. O Nextstrain é um projeto de código aberto que usa dados genômicos de patógenos, como os vírus SARS-CoV-2, Influenza, Ebola e Monkeypox, para fornecer uma visão atualizada da dinâmica destes, juntamente

com ferramentas de análise e visualização. O projeto Nextstrain.org também propõe um sistema de classificação de clados, que a princípio buscou associar o clado ao ano em que o clado emergiu (Hadfield *et al.*, 2018; Hodcroft *et al.,* 2020).

A identificação de um novo vírus com potencial pandêmico, e o surgimento de novas variantes virais ao decorrer da pandemia, ressalta a importância de haver um acompanhamento da evolução do vírus. A vigilância genômico-epidemiológica associa dados genômicos, obtidos através do sequenciamento do genoma de patógenos, e filogenéticos, a metadados de vigilância epidemiológica de determinada doença em uma população, possibilitando o acompanhamento da escala e padrões de transmissão da doença (Hill *et al.*, 2021).

O avanço da vigilância genômica, com diminuição dos custos, adaptação de métodos, e rapidez na produção de dados, foi um marco importante na pandemia do SARS-CoV-2, sendo essencial para acompanhar a evolução do vírus e guiar as medidas de ação na população (Faria *et al.*, 2021; Hill *et al.*, 2021; Jesus *et al.*, 2020; Meredith *et al.*, 2020; Tegally *et al.*, 2022).

Todavia, apesar da grande quantidade de genomas gerados, foi observado disparidades entre os sequenciamentos por semana epidemiológica de acordo com o país ou região (Brito *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2022). Até fevereiro de 2022, foi observado que países e regiões de baixa renda sequenciaram menos amostras, uma quantidade menor que 0,5% do total do número de casos. Enquanto países de alta renda, como o Reino Unido e Dinamarca por exemplo, apesar do grande número de casos reportados, conseguiram sequenciar cerca de 10% dos casos semanalmente (Brito *et al.*, 2022). Na América Latina, em países como Brasil, México, Colômbia, Chile e Peru foram alcançados menos de 1% dos casos por semana. Sendo assim, a vigilância genômico-epidemiológica do SARS-CoV-2, apesar de ser essencial para acompanhar a evolução do vírus, é de difícil realização em muitos países, sobretudo quando não há investimento suficiente em pesquisa e desenvolvimento, e nos sistemas de saúde (Brito *et al.*, 2022).

1.6 As novas variantes do SARS-CoV-2

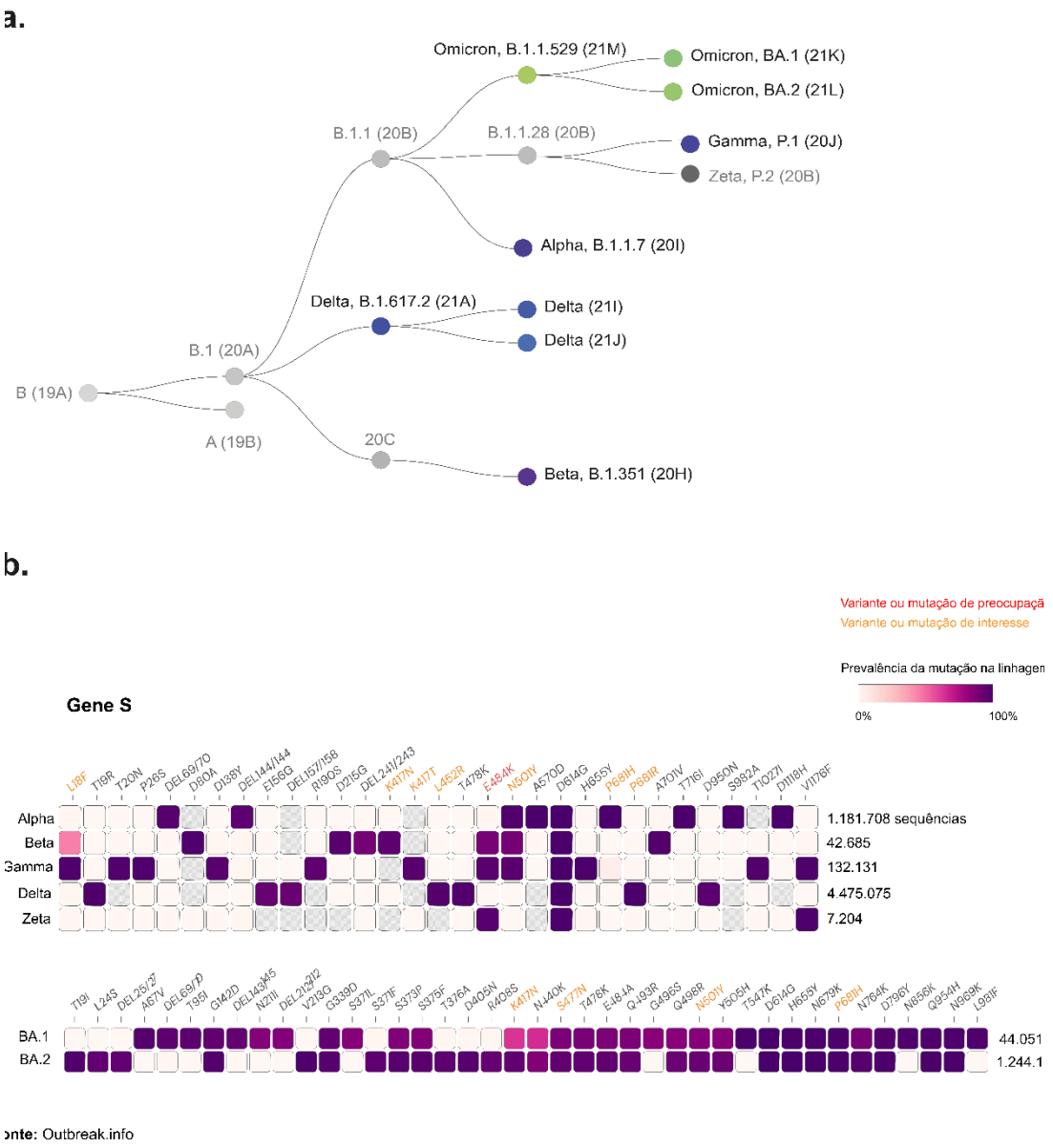
Com o intuito de facilitar os estudos sobre as novas variantes, a OMS tem classificado as variantes virais em diferentes grupos de acordo com os possíveis

riscos, e definido as prioridades em relação à tomada de decisões. São eles: as VOCs (*variants of concern*), VOIs (*variants of interest*) e VUMs (*variants under monitoring*). São classificadas como VOIs as variantes de SARS-CoV-2 que possuem mutações as quais podem afetar a transmissão, o diagnóstico, métodos terapêuticos já conhecidos como a terapia com anticorpos monoclonais, e escapar da resposta imune. Pode ser responsável pelo aumento de casos em uma região, apresentar uma prevalência limitada nos países, porém apresenta risco emergente à saúde pública global (Organização Mundial da Saúde, 2023).

Já o termo VOC é destinado àquelas variantes de SARS-CoV-2, e subvariantes, cujas mutações são preocupantes e possuem embasamento científico, possuem as características de uma VOI (descritas abaixo), havendo evidências do aumento da transmissibilidade do vírus, ou do aumento do número de hospitalizações e óbitos, ou da redução significativa da neutralização de anticorpos gerados por infecção prévia ou vacinação, ou redução da efetividade de medidas públicas, tratamentos e vacinas. Podem ainda não ser detectadas em teste diagnóstico molecular como o PCR, devido a variabilidade genética, sendo necessário alguns ajustes nas sequencias iniciadoras, ou *primers*. VOCs se espalham mais facilmente e podem se tornar prevalentes em regiões e países inteiros (Harvey *et al.*, 2021; Parums, 2021; Organização Mundial da Saúde, 2023) .

Mais recentemente foi criado o grupo das VUMs, que inclui variantes virais com mutações suspeitas de causarem mudanças biológicas significativas com risco potencial, mas que ainda estão sob investigação. Para cada tipo de variante detectada, foram estabelecidas ações que devem ser tomadas pela própria OMS e países membros. E por fim, as classificações das variantes são atualizadas com frequência, e reportadas nos boletins epidemiológicos semanais da OMS (Parums, 2022; Organização Mundial da Saúde, 2023).

Figura 5 Variantes de preocupação e as mutações no gene S



Fonte: **a.** Adaptado de https://github.com/nextstrain/ncov-clades-schema, acesso em 03 de dezembro de 2023, onde a figura foi simplificada para mostrar apenas as variantes abordadas no presente estudo, e onde foram acrescentadas as linhagens B.1.1.28 e a Zeta (P.2). A figura ilustra a relação filogenética entre as variantes de preocupação, ou VOCs, cuja classificação em clados do Nexstrain se encontra entre parênteses. **b.** Ilustração adaptada de https://outbreak.info/compare-lineages, acesso em 5 de outubro de 2023 (Gangavarapu *et al.*, 2023). São mostradas as mutações de substituição de aminoácidos e de deleção no gene S reportadas nas linhagens Alpha, Beta, Gamma, Delta e Zeta, além das sublinhagens BA.1 e BA.2 da Omicron. A coloração indica a frequência de cada mutação gerada pelo relatório com base nas sequencias avaliadas.

A primeira VOC reportada, foi a variante Alpha (linhagem B.1.1.7, clado GISAID GRY e clado Nextstrain 20I) identificada pela primeira vez no Reino Unido em novembro de 2020 (Davies *et al.*, 2021; Agência de Saúde Pública da Inglaterra, 2020) (Figura 5a). Essa variante se disseminou e passou a ser a linhagem dominante no Reino Unido, atingindo outros países como Dinamarca, Suíça, Suécia e EUA, num total de 174 países, incluindo o Brasil (https://cov-lineages.org/). A variante Alpha possui 14 alterações proteicas em seu genoma, em comparação com a linhagem ancestral B. Destas, 3 são deleções de amino-ácidos e 8 são mutações na proteína S (Figura 5b), entre elas a N501Y, que tem sido associada ao aumento da afinidade da proteína S com a ACE2, e a deleção ΔH69/ΔV70 na região S2 da proteína S, que permite uma melhor clivagem dessa proteína e melhora na infectividade além de ter sido identificada em casos de escape imunológico em pacientes imunocomprometidos (Kemp *et al.*, 2021; Meng *et al.*, 2021). No Brasil, a Alpha foi reportada em 13 estados e no Distrito federal (dados coletados no GISAID em 18 de setembro de 2023).

A variante Beta (linhagem B.1.351, clado GISAID GH e clado Nextrain 20H) (Figura 5a) foi descrita pela primeira vez na África do Sul (Tegally *et al.*, 2021). Foi classificada como VOC, e atingiu países como EUA, França, Suécia, Alemanha, num total de 125 países, com prevalência maior nos países africanos como Tanzânia, seguido de Angola, Namíbia, Zimbabue e Madagascar (Gangavarapu *et al.*, 2023). Essa variante possui 9 mutações com alteração proteica, das quais 5 estão localizadas no RBD (Tegally *et al.*, 2021). A Alpha e a Beta apresentam mutações em comum, uma delas é a N501Y (Figura 5b) (Harvey *et al.*, 2021). No Brasil, a Beta foi pouco reportada, apenas 13 genomas foram depositados na plataforma GISAID, oriundos da Bahia (n=1) e São Paulo (n=12) (dados coletados no GISAID em 18 de setembro de 2023) (Gangavarapu *et al.*, 2023).

Em dezembro de 2020, a Gamma (linhagem P.1, clado GISAID GR e clado Nextstrain 20J) (Figura 5a) foi identificada durante um aumento de hospitalizações e mortes em Manaus, estado do Amazonas. Também conhecida como P.1, surgiu a partir da linhagem B.1.1.28 (Faria *et al.*, 2021). A Gamma apresenta um conjunto de 17 mutações, das quais 10 são mutações de substituição de aminoácidos na proteína S, sendo as mutações N501Y, K417T e E484K na região RBD (*receptor binding domain*) (Faria *et al.*, 2021; Sabino *et al.*, 2021) (Figura 5b). A Gamma foi reportada em 91 países, abrangendo todos continentes, porém

com maior prevalência nas Américas do Sul e Central (Gangavarapu *et al.*, 2023). Essa variante, a qual também está associada a um aumento da transmissibilidade, se tornou a variante dominante no Brasil entre março e agosto de 2021, atingindo todos os estados e o Distrito Federal (Campbell *et al.*, 2021; Gangavarapu *et al.*, 2023).

Em abril de 2021, foram depositados os primeiros genomas da variante Delta (linhagem B.1.617.2, clado GISAID GK e clado Nextstrain 21A) (Figura 5a), primeiramente detectada na Índia no final de 2020, também classificada como VOC (Dhar *et al.* 2021; Cherian *et al.*, 2021). Essa variante se disseminou por ao menos 201 países, com alta prevalência em todos os continentes (Gangavarapu *et al.*, 2023). Através do sequenciamento e vigilância genômica, foi possível identificar 246 sublinhagens da Delta, mostrando uma alta diversidade genética, das quais a AY.4 teve a maior quantidade de genomas sequenciados. A VOC Delta e suas sublinhagens foram associadas a um rápido aumento do número de casos de COVID-19 (Campbell *et al.*, 2021; Dhar *et al.*, 2021). Essas variantes possuem constelações de mutações, entre elas a K417N (Figura 5b), associada ao escape de NAbs (Dhar *et al.*, 2021; Harvey *et al.*, 2021). A Delta se espalhou rapidamente pelo Brasil, onde já foram sequenciados mais de 48 mil genomas em todos os estados e no Distrito Federal, principalmente entre os meses de setembro de 2021 ao início de 2022 (Gangavarapu *et al.*, 2023).

Também foram identificadas variantes brasileiras, como a Zeta (linhagem P.2) (Figura 5a), oriunda da linhagem B.1.1.28, a qual foi reportada em 46 países, principalmente na América do Sul, como Brasil, Paraguai, Suriname e Uruguai. Algumas sequências também foram reportadas na América do Norte, incluindo EUA e Canadá, México, na América Central, em diversos países europeus, na África do Sul, Austrália, Índia e Japão. A variante Zeta, teve um pico de detecções entre dezembro de 2020 e março de 2021 no Brasil, abrangendo todos os estados e o Distrito Federal (Gangavarapu *et al.*, 2023; Voloch *et al.*, 2021). A Zeta apresenta mutações no gene S em comum com outras variantes, como E484K, D614G e V1176F (Figura 5b). Chegou a ser classificada como VOI, sendo em seguida realocada como variante sob monitoramento pela OMS. Outra variante identificada no Brasil foi a P.4, em março de 2021, a qual possui a mutação L452R (também presente na Delta), foi identificada primeiramente na cidade de Porto Ferreira no

estado de São Paulo, e nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Sergipe (Bittar *et al.*, 2021).

Em 26 de novembro de 2021, a OMS reconheceu uma nova VOC, a variante Ômicron (linhagem B.1.1.529, clado GISAID GRA, e clado Nextstrain 21K) (Figura 5a) (Organização Mundial da Saúde, 2023; Viana *et al.*, 2022). Essa variante apresentou, a princípio, ao menos 35 alterações características na região da proteína S, algumas em comum com outras variantes como a T478K comum com a Delta, a deleção del69/70 comum com a Alpha e a N501Y, também com Beta e a Gamma (Harvey *et al.*, 2021; Greaney *et al.*, 2021). Duas sublinhagens da Omicron apresentaram maior frequência até fevereiro de 2022, a BA.1 e a BA.2, as quais apresentaram 21 mutações em comum na região da proteína S (Figura 5b).

Além disso, foram identificadas na Omicron algumas mutações associadas a um aumento ou melhora da ligação entre a proteína S e o receptor ACE2, como G339D, N440K, S477N, T478K, Q498R e N501, proporcionando maior capacidade infectiva (Greaney *et al.*, 2021; Willett *et al.*, 2022; Zahradník *et al.*, 2021). Consequentemente, foram observados em alguns testes de PCR a falha na detecção do gene da proteína S, principalmente devido a quantidade de mutações nesse gene, assim como também foi visto na Alpha (McMillen *et al.*, 2022; Walker *et al.*, 2021). A VOC Omicron se tornou dominante em um cenário global, com alta variabilidade genética e diferentes sublinhagens, as quais foram posteriormente classificada em diferentes clados pelo Nextstrain, como os clados 21L, 21M, 22A, 22B, 22C, 22D, 22E, 22D, 22F, 23A, cada um com suas particularidades genéticas (disponível em https://nextstrain.org/ncov/open/global/6m) (Hadfield *et al.*, 2018).

Com o advento da variante Ômicron no final de 2021 e começo de 2022, foi observado uma nova onda mundial de infecções, com um pico de mais de 3 milhões de novos casos em janeiro de 2022, o maior número de novos casos registrados até então. Porém, a percentagem de pessoas que evoluiu para doença grave e óbito foi relativamente menor do que nos períodos anteriores. No Brasil, o pico de novos casos associados à Ômicron aconteceu no final de janeiro e início de fevereiro de 2022, como descrito anteriormente. Nesse mesmo período, foram reportados pouco mais de mil óbitos por COVID-19 diferente do que foi observado em 2021, com o advento da VOC Gamma, que chegou a causar um pico de mais de 4 mil novos óbitos em abril de 2021, com quase 90 mil novos casos reportados no mesmo dia. A emergência da Ômicron coincidiu com um período de avanço da

cobertura vacinal, colaborando com a diminuição da gravidade da doença nesse período (Feikin *et al.*, 2022; Dos Santos *et al.*, 2023; Conselho Nacional de Secretários de Saúde, 2023).

1.7 As vacinas contra a COVID-19 e os desafios frente às novas variantes

A rapidez com que as vacinas contra a COVID-19 foram feitas, em comparação com vacinas de outras doenças, foi marcante. Em não mais que um ano e meio após o sequenciamento do primeiro genoma, já havia vacinas sendo aprovadas nos EUA. Diversos órgãos financiadores investiram bilhões de dólares, como o *Coalition for Epidemic Preparedness Innovations* (CEPI), *Biomedical Advanced Research and Development Authority* (BARDA), *European Union Vaccine program*, *Operation Warp Speed* do governo dos EUA, para acelerar os testes, aprovações e fabricação de vacinas por diversas instituições, investindo em tecnologias que já estavam sendo estudadas para outras doenças. Além disso, a aliança denominada Gavi (*Global Access Vaccine Alliance*), junto com o CEPI e a OMS lançaram a iniciativa COVAX (*Coronavirus Vaccine Access*) para que países com poucos recursos também tivessem acesso às vacinas (Kyriakidis *et al.*, 2021).

De 242 candidatas a vacinas, 92 foram para a fase 3 de ensaios clínicos até dezembro de 2022. Mais de 800 ensaios clínicos em diferentes países já foram realizados, os quais permitiram a aprovação de 50 diferentes vacinas contra a COVID-19 pela OMS até dezembro de 2022 (VIPER Group, 2022).

Diferentes tipos de vacinas contra a COVID-19 foram produzidas, como por exemplo as vacinas de mRNA BNT162b2 (Pfizer/BioNTech) e a mRNA-1273 (Moderna/BARDA/NIAID), ambas aprovadas pela OMS (VIPER Group, 2022). Essas vacinas carregam uma estrutura similar a um mRNA que são cuidadosamente desenhadas para codificar a proteína S e evitar a degradação por fatores celulares, e são recobertos por nanopartículas lipídicas que permitem a entrada na célula. A proteína S viral recém produzida é então quebrada pelo proteossomo, e seus fragmentos, ou peptídeos, são apresentados pelo complexo MHC (Complexo Principal de Histocompatibilidade) classe I na superfície das células que posteriormente irão apresentar o antígeno às células T CD8+ ou citotóxicas, as quais

ao serem ativadas liberam substâncias citolíticas para lisar as células infectadas (Chaudhary, Weissman e Whitehead, 2021).

Células apresentadoras de antígenos, como as dendríticas (DCs), ao incorporar as partículas contendo mRNA vacinal também podem gerar uma resposta, apresentando os peptídeos da proteína S via MHC classe II na membrana celular, onde são reconhecidas por linfócitos T CD4+, ou auxiliares, que liberam citocinas para ativação de outras células imunes. Essas células apresentadoras de antígenos, assim como os linfócitos T CD4+, atuam, também, na ativação, diferenciação e proliferação de linfócitos B culminando na produção de anticorpos neutralizantes específicos (Kyriakidis *et al.*, 2021). Apesar de utilizar uma tecnologia relativamente nova, as vacinas de mRNA são seguras, e apresentaram, a princípio, uma eficiência de 95% após duas doses (Walsh *et al.*, 2020).

As vacinas de vírus inativados também foram amplamente utilizadas, como a Coronavac (Sinovac) e as vacinas inativadas da Sinopharm, também aprovadas pela OMS. Essas vacinas possuem a partícula viral inteira, inativada por um processo químico ou físico (VIPER Group, 2022). No caso da Coronavac, os vírus são inativados com formalina. Essas vacinas geralmente necessitam da adição de um adjuvante, uma substância química que atua como amplificador da resposta imune. A partícula viral inativada é capturada por DCs e outras células apresentadoras de antígenos circulantes no músculo, são degradadas em pequenos peptídeos e apresentados pelo MHC classe I e II às células T (Kyriakidis *et al.*, 2021). Já foi demonstrado que a Coronavac é uma vacina segura, e os dados de eficiência apresentaram variações de acordo com o local, 65,9% no Chile, 83,5% na Turquia, e 50% em um estudo realizado no Brasil (Jara *et al.*, 2021; Palacios *et al.*, 2020; Tanriover *et al.*, 2021).

Outra opção importante utilizada em diversos países foram as vacinas de vetor viral, como a AstraZeneca/Oxford (ChAdOx1), a Sputnik V, e a vacina da Janssen Ad26.COV2.S (proposta inicialmente como dose única) (VIPER Group, 2022). As vacinas de adenovírus utilizam partículas recombinantes, geneticamente modificadas para que não repliquem após a entrada na célula hospedeira, além de carregarem a informação genética necessária para a produção da proteína S do SARS-CoV-2 (Kyriakidis *et al.*, 2021). Estas vacinas são altamente imunogênicas e seguras. A ChAdOx1 apresentou eficácia de cerca de 70% após a segunda dose (Voysey *et al.*, 2021), e a Ad26.COV2.S mostrou eficácia de cerca de 76 a 80%

(Polinski *et al.*, 2022; Sadoff *et al.*, 2021). Já a Sputinik V, apresentou resultados de eficácia de 91 a 97% (Logunov *et al.*, 2021).

A campanha de imunização contra a COVID-19 no Brasil teve início em janeiro de 2021 com vacinas aprovadas pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para uso emergencial, sendo estas oferecidas pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI) e distribuídas pelo SUS (Brasil, [s.d.]). Existem quatro maneiras pelas quais a ANVISA permite que uma vacina contra a COVID-19 possa ser disponibilizada no país: registro, autorização de uso emergencial, importação excepcional ou por meio do consórcio COVAX (Brasil, [s.d.]). Foram aprovadas no Brasil as vacinas Coronavac (Butantan), Ad26.COV2.S (Janssen), ChAdOx1 Oxford (Fiocruz e Astrazeneca). Em 2022, foram aprovadas mais 3 vacinas, bivalentes, para dose de reforço contra a COVID-19, sendo elas a Comirnaty bivalente (Pfizer), Comirnaty (Pfizer/Wyeth), e em 2023 a Spikevax bivalente, da Moderna (Brasil, [s.d.]).

No Brasil, dados coletados da Rede Nacional de Dados de Saúde (RNDS) mostram que em 2021, foram aplicadas cerca de 341,7 milhões de doses de vacina contra a COVID-19 no Brasil, onde cerca de 86,8 milhões foram Coronavac (25,4%), 118 milhões foram da ChAdOx1 (34,5%), 6,2 milhões foram da Janssen Ad26.COV2.S (18,1%) e 130,5 milhões foram da BNT162b2 (38,2%) (infoms.saude.gov.br). Em 2022 a vacinação continuou totalizando 392,77 milhões de doses aplicadas (Brasil, 2023).

Em Campinas, a vacinação contra a COVID-19 começou em 18 de janeiro de 2021. As primeiras vacinas aprovadas e aplicadas foram Coronavac e ChAdOx1. Idosos (acima de 60 anos) e profissionais da saúde foram os primeiros grupos a serem vacinados. Até o dia 2 de março de 2022, 2,5 milhões de vacinas foram aplicadas, alcançando uma cobertura vacinal de 53,8% da população adulta com o esquema vacinal completo mais dose de reforço (Brasil, 2023).

O Brasil, até dezembro de 2022, esteve com 81,7% da população com ao menos 2 doses de vacina aplicadas, com cerca de 100 milhões de doses de reforço, e 36 milhões da segunda dose de reforço aplicadas. As faixas etárias com maior cobertura vacinal foram de 35 a 44 anos, seguido das faixas etárias de 12 a 17; 20 a 34 e 45 a 59 anos. As faixas etárias de 60 a 69; 70 a 70 e acima de 80 anos tiveram menos doses aplicadas, porém com boa porcentagem de doses adicionais dentro desses grupos (Brasil, 2023).

Todas as vacinas contra a COVID-19 aprovadas para uso no Brasil mostraram alta proteção contra doenças graves (Cerqueira-Silva *et al.*, 2022; Jara *et al.*, 2021; Sadoff *et al.*, 2021; Walsh *et al.*, 2020). Porém, o surgimento de variantes virais com acúmulo de mutações, principalmente na proteína S, foi um desafio para os sistemas de saúde, tornando necessário a adoção de doses de reforço dadas as possibilidades de escape imunológico ou redução da eficiência vacinal. Mesmo com o esquema de vacinação completo, foi observado, a princípio, que as variantes como a Alpha, a Beta e a Gamma, seguidas da Delta, possuíam capacidade de evasão da ação de NAbs. Essa capacidade está associada, inclusive, à presença de algumas mutações, como a E484K (presente nas variantes Gamma e Beta) e a K417N (presentes na variante Beta) (Campbell *et al.*, 2021; Davies *et al.*, 2021; Faria *et al.*, 2021; Harvey *et al.*, 2021; Planas *et al.*, 2021; Sabino *et al.*, 2021; Tegally *et al.*, 2021).

A ascensão da VOC Ômicron causou um aumento significativo de novos casos em 2022, ocasionando uma nova onda de infecção associada a uma alta capacidade de escape imunológico frente a NAbs e maior infectividade (Willett *et al.*, 2022). Estudos até então realizados com essa variante mostraram que a efetividade das vacinas, em diferentes combinações de doses de reforço, foi maior frente a Delta do que a Ômicron (Buchan *et al.*, 2022; Tamandjou Tchuem *et al.*, 2023; Thompson *et al.*, 2022). A proteção contra doença sintomática causada pela Ômicron em pessoas que receberam apenas duas doses da vacina ChAdOx1 caiu para quase zero após 20 semanas, e 8.8% após 25 semanas em pessoas que receberam duas doses da vacina BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) em um estudo realizado na Inglaterra (Andrews, Stowe, *et al.*, 2022). Uma dose de reforço, ou *booster*, com uma vacina de mRNA (BNT162b2 ou mRNA-1273) pode ajudar a melhorar a proteção frente a essa VOC, melhorando em 80 a 90% a proteção contra casos graves da doença (Andrews, Stowe, *et al.*, 2022; Ranzani *et al.*, 2022).

Os dados da literatura mostram que existe uma fluidez na eficácia de anticorpos neutralizantes, apontando para uma eficácia efêmera, que decai com o tempo e com a ascensão de novas variantes virais (Andrews, Stowe, *et al.*, 2022; Feikin *et al.*, 2022; Ferdinands *et al.*, 2022; Liu *et al.*, 2022). Todavia, estudos sobre a resposta imune celular também trazem informações importantes, como os levantados por Naranbhai e colaboradores (2022): a resposta de células T frente a Ômicron, se encontra reduzida, mas ainda está presente na maioria dos indivíduos

vacinados; e a reatividade pode ser aumentada após vacinação com dose de reforço (Naranbhai *et al.*, 2022).

Doses de reforço ajudam a potencializar a resposta de células T efetoras, podendo aumentar em até 20 vezes sua capacidade de detectar epítopos da variante Omicron (Wherry e Barouch, 2022; Yu, Tai e Cheng, 2022), o que pode estar associado a proteção frente à doença grave que a vacinação confere (Feikin *et al.*, 2022). Dessa forma, o aparecimento da nova VOC se tornou uma preocupação para a saúde pública global e um motivo a mais para acelerar as vacinações em todo o mundo, assim como incentivou a produção de novas gerações de vacinas (Keeton *et al.*, 2021; Schmidt *et al.*, 2021).

1.8 COVID-19: infecção aguda, infecção persistente e COVID longa

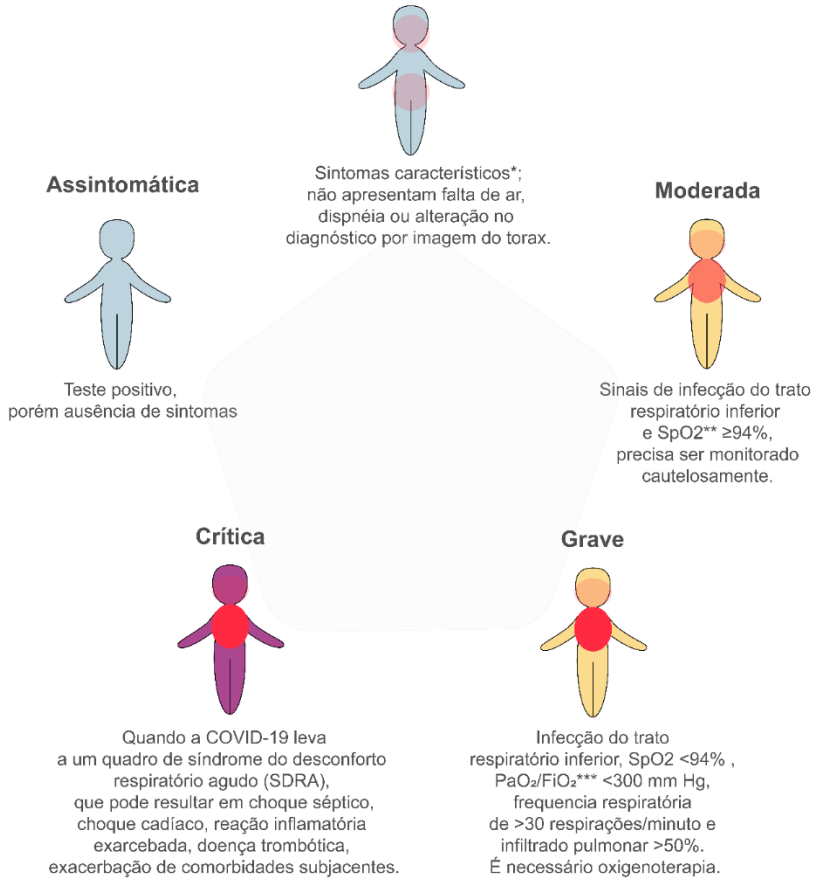
A COVID-19 é uma doença respiratória, ou seja, a sua transmissão ocorre principalmente pela via respiratória após o contato com gotículas de saliva, aerossóis ou fômites contaminados (Chu *et al.*, 2020). Pessoas infectadas podem transmitir as partículas virais principalmente ao tossir, espirrar ou falar. A infecção de células epiteliais e pneumócitos nas vias aéreas ocorre por meio da ligação da proteína S viral com receptores presentes na célula hospedeira, como descrito anteriormente (Hoffmann *et al.*, 2020). Foi observado um período de incubação, incluindo infecções pelas novas variantes, de 4,54 dias (com intervalo de confiança de 95% entre 4,51– 4,57) (Galmiche *et al.*, 2023). Foi observado também que após o primeiro contato, pode ocorrer um pico de produção viral 2 a 3 dias antes do aparecimento dos sintomas, e portanto existe a possibilidade de transmissão por indivíduos pré-sintomáticos (Bai *et al.*, 2020; Wiersinga *et al.*, 2020).

Os sintomas mais comuns na doença aguda são os gripais, entre os quais dor de garganta, fadiga muscular, congestão nasal, tosse, febre e dores de cabeça. Foi observado também anosmia (perda do olfato), disgeusia (alterações no paladar) e ou ageusia (perda do paladar), além de diarreia, náuseas e vômito (Guan *et al.*, 2020; Lamers e Haagmans, 2022). Indivíduos que não apresentam sintomas característicos, e ainda assim têm resultado positivo em um teste laboratorial para SARS-CoV-2, são denominados assintomáticos, e pacientes com pouco sintomas são denominados oligossintomáticos (Figura 6). Alguns estudos trazem evidências de que indivíduos assintomáticos e pré-sintomáticos também são capazes de

transmitir o vírus para outras pessoas (Bai *et al.*, 2020; Wei *et al.*, 2020; Yanes-Lane *et al.*, 2020).

Apesar da maioria dos casos desenvolverem doença leve, pacientes que apresentam dor no peito, dificuldade para respirar, alteração na tonalidade da pele (para tons azulados), e saturação de oxigênio abaixo de 95% têm chances maiores de apresentar doença moderada ou grave (Figura 6) e necessidade de internação (National Institutes of Health, 2023). Entre as comorbidades mais observadas como possíveis fatores de risco pode-se citar: diabetes, obesidade, falência renal, e doenças cardiovasculares como hipertensão e arritmias cardíacas (Huang *et al.*, 2020a; Karagiannidis *et al.*, 2020; Wiersinga *et al.*, 2020). Pacientes hospitalizados também podem apresentar febre, mialgia, fadiga e tosse seca (Wiersinga *et al.*, 2020).

Figura 6 Classificação dos diferentes espectros clínicos da COVID-19



Fonte: Ilustração construída pela autora a partir da referência https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum. Acesso em 18 de abril de 2023. *Os sintomas característicos incluem febre, tosse, dor de garganta, mal-estar, mialgia, náusea, vômito, diarreia, disgeusia e

ageusia. **Saturação de oxigênio. ***Relação entre a pressão arterial parcial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio.

O SARS-CoV-2, assim como MERS e SARS, infectam células do trato respiratório superior. Porém, a infecção por esses vírus tem alto potencial de causar danos também no trato respiratório inferior, levando a casos de síndrome respiratória aguda grave (SRAG), também podendo ocasionar a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (Rockx *et al.*, 2020). Nesses casos, o quadro clínico é crítico e pode ser fatal, onde são observadas lesões ocasionadas por um processo inflamatório intenso nos pulmões, e consequentemente perda de função do tecido pulmonar (Guan *et al.*, 2020; Lamers e Haagmans, 2022; Rockx *et al.*, 2020) (Figura 6). Pacientes críticos com SDRA apresentam níveis séricos elevados de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 (IL-1), IL-6, IL-8, e fator de necrose tumoral (TNF) e concentrações elevadas de marcadores inflamatórios como D-dímero, ferritina e C-reativo proteína (PCR) (Lamers e Haagmans, 2022; Papadopoulou *et al.*, 2022).

Ainda que seja considerada uma doença primariamente respiratória, a COVID-19 foi classificada como uma doença sistêmica, podendo causar danos gastrointestinais, neurológicos, cardíacos, hepáticos, renais, musculares, arritmias e coagulopatias, além de choque. Entre as complicações ocasionadas pela COVID-19, além das pulmonares, pode-se citar problemas cardiovasculares (como miocardite, cardiomiopatia, arritmias ventriculares e instabilidade hemodinâmica), além de insuficiência renal, distúrbios neurológicos e eventos trombóticos (Wiersinga *et al.*, 2020).

Com o decorrer da pandemia, foi observado a capacidade do vírus em estabelecer infecções persistentes ou crônicas em alguns indivíduos, ou seja, o vírus continua infectando as células hospedeiras e replicando seu material genético para a produção de novas partículas virais por um longo período. A infecção persistente pelo SARS-CoV-2 tem sido reportada em pacientes com imunodeficiências primárias e neoplasias hematológicas, pessoas em uso de terapias imunossupressoras, e positivos para o vírus HIV, não tratados (Hettle *et al.*, 2022; Lee *et al.*, 2022; Zhabokritsky *et al.*, 2023).

Os pacientes podem permanecer positivos e sintomáticos por semanas, podendo ou não desenvolver doença grave, devido a resposta imunológica ineficaz frente ao vírus (Choudhary *et al.*, 2022).

Algumas opções de tratamento incluem drogas antivirais como remdesivir, coquetéis de anticorpos monoclonais ou plasma convalescente (Helleberg *et al.*, 2020; Hueso *et al.*, 2022; Taha *et al.*, 2021). Infecções persistentes em pacientes imunossuprimidos têm sido associadas a evolução viral acelerada e aparecimento de novas variantes virais (Choudhary *et al.*, 2022).

Por outro lado, tem sido observado em diferentes países que uma proporção significante dos pacientes, mesmo após a remissão dos sintomas agudos da doença e teste molecular com resultado negativo, podem apresentar apresentam sintomas residuais, também descritos como sequelas da COVID, numa condição que vem sendo denominada como COVID longa ou síndrome pós-covid, entre outros termos (O'Mahoney *et al.*, 2023; Seeßle *et al.*, 2022). Os tipos de sintomas residuais observados variam, sendo comum anosmia e ageusia, problemas cardiorrespiratórios, doenças trombóticas, e desordens neurológicas, como alteração de concentração, depressão, perda de memória e problemas de articulação de palavras. A duração dos sintomas também varia, podendo persistir por mais de 28 dias e em média 4 meses (Seeßle *et al.*, 2022).

Em uma revisão sistemática da literatura, apresentada por O'Mahoney e colaboradores (2023), foram avaliados 194 estudos, dos quais observou-se entre os pacientes sobreviventes que 45% apresentaram ao menos um sintoma residual, com um acompanhamento de em média 126 dias após o diagnóstico inicial. Entre os sintomas, a fadiga foi frequentemente reportada entre pacientes hospitalizados (28.4%) e não hospitalizados (34.8%). Outros sintomas persistentes reportados em pacientes não hospitalizados foram a dispneia, mialgia, alterações no sono e anosmia. Em pacientes hospitalizados, foram observadas sequelas na estrutura e função do tecido pulmonar, e capacidade de difusão de monóxido de carbono prejudicada (O'Mahoney *et al.*, 2023).

1.9 Reinfecções

Ainda em 2020, antes do aparecimento das novas variantes virais de preocupação mundial, já havia evidências de casos de reinfecção pelo novo

coronavírus (Tillett *et al.*, 2021; To *et al.*, 2021; Van Elslande *et al.*, 2021). Devido à dificuldade de sua confirmação, e a complexidade envolvida na diferenciação dos casos de reinfecção com casos de detecção prolongada de RNA viral e infecção persistente, a Organização Panamericana de Saúde (OPAS), publicou, em outubro de 2020, um guia contendo recomendações provisórias para a definição de casos de reinfecções. A OPAS definiu como “suspeita de reinfecção” casos em que a pessoa é infectada uma vez pelo SARS-CoV-2, e após um período ≥90 dias sem infecção, volta a ser infectada. Ou até mesmo um período mais curto, ≥45 dias, se tiver como comprovar que não havia partículas virais viáveis sendo produzidas nesse período, RNA viral, ou infecção por outros agentes virais. Para a confirmação, é necessário que haja coleta de amostra biológica nos dois momentos de infecção (Organização Pan-Americana de Saúde, 2020).

Habitualmente, as reinfecções podem ocorrer entre os coronavírus que causam resfriado em seres humanos como o HCoV-OC43, HCoV-HKU1, e HCoV-229E. Foi observado que o tempo entre uma infecção e outra pode ser de em média 12 meses, podendo ocorrer antes, com até 6 meses após a primeira infecção (Edridge *et al.*, 2020). Esses vírus afetam crianças e adultos, sendo mais frequentes em crianças, e raramente causam doença grave (Ogimi *et al.*, 2020). Estudos apontam que diferenças genéticas, assim como a gravidade da doença, podem estar relacionadas com a durabilidade e efetividade da resposta imune frente a esses vírus, tornando ou não o cenário mais favorável às reinfecções (Callow *et al.*, 1990; Galanti e Shaman, 2021; Schmidt *et al.*, 1986).

Os primeiros casos suspeitos de reinfecção pelo SARS-CoV-2 começaram a ser detectados ainda em 2020, sendo o primeiro em Hong Kong em agosto, em um paciente do sexo masculino de 33 anos, assintomático na segunda infecção (Tillett *et al.*, 2021; To *et al.*, 2021). Os casos de reinfecção foram associados a uma baixa produção ou ausência de Imunoglobulina G (IgG) anti-SARS-CoV-2 nos pacientes, como nos primeiros casos reportados, alertando desde então que uma primeira infecção pelo vírus poderia não produzir resposta imune humoral suficiente para evitar uma segunda infecção (To *et al.*, 2021; Townsend *et al.*, 2021). Logo, a identificação de casos de reinfecção por esse vírus teve grande impacto no meio científico e no âmbito de saúde pública, pois poderia implicar na maneira como ocorreriam as campanhas de vacinação, e nas tomadas de decisões, como a necessidade de manutenção das medidas não farmacológicas de contenção

por profissionais de saúde previamente infectados em ambientes hospitalares (COVID-19 Forecasting Team, 2023).

Nas reinfecções pelo SARS-CoV-2 o tempo entre uma infecção e outra também varia, sendo reportado casos nos quais o período mais curto observado foi de 19 dias (Ren *et al.*, 2022). Em uma grande parte dos pacientes onde foram reportados casos de reinfecção na literatura, foram observados sintomas na primeira e ou segunda infecção, sendo que casos assintomáticos em ambos os episódios são menos frequentes. Sintomas graves e óbitos também foram reportados (Ren *et al.*, 2022), principalmente com o surgimento das VOCs, dando início a uma nova fase da pandemia onde os casos de reinfecções deixaram de ser raros (Coutinho *et al.*, 2021; COVID-19 Forecasting Team, 2023; Rahman *et al.*, 2022; Ren *et al.*, 2022; Sabino *et al.*, 2021).

A partir de 2022 com a emergência da VOC Ômicron e as sublinhagens desta, como a BA.1, os casos de reinfecções tornaram-se ainda mais frequentes. Uma revisão sistemática publicada em fevereiro de 2023 envolvendo 65 estudos publicados em 19 países, incluindo o Brasil, mostrou que a proteção frente a reinfecções com doença sintomática cai de 78% (valor apresentado pelo vírus ancestral, e pelas VOCs Alpha, e Delta) para cerca de 37% frente a BA.1, em um período de 40 semanas. A proteção frente à doença grave, por outro lado, continua alta mesmo com a Ômicron e sublinhagens (COVID-19 Forecasting Team, 2023). Reinfecções por VOCs como a Ômicron também foram reportadas em indivíduos vacinados, porém com menor chance de hospitalização e menor risco de transmissão para outras pessoas (Ahmed, Quadeer e McKay, 2022; Rahman *et al.*, 2022).

Apesar da resposta imune humoral, onde temos a ação de anticorpos neutralizantes, diminuir significativamente com o tempo pós infecção natural ou vacinação, outros braços do sistema imunológico continuam a agir por um período mais prolongado, como a resposta imune celular mediada pelas células T, descrita anteriormente. Com o advento das vacinas, foi possível observar aumento na efetividade das respostas imunes humoral e celular frente a esse vírus, uma nova esperança para mitigar os casos de reinfecção por novas variantes com sintomas graves (Ahmed, Quadeer e McKay, 2022; Guo *et al.*, 2022).

1.10 Justificativa

A pandemia de COVID-19 desencadeou uma crise de saúde pública global com impactos significativos na sociedade, na economia e na demografia. O SARS-CoV-2 é um vírus muito transmissível, de alta mutabilidade e que apesar das estratégias de vacinação e da implementação de diversas medidas de controle e isolamento, continua a se disseminar na comunidade. A transmissão comunitária em larga escala, a capacidade de infectar outros hospedeiros, o surgimento de novas variantes virais, a imunidade não permanente, risco de reinfeções e as sequelas persistentes da COVID-19 fazem da pandemia um problema ainda vigente e longe de ser solucionado. Desse modo, diferentes estratégias de vigilância epidemiológica, incluindo-se a genômica, baseadas no sequenciamento do genoma completo de SARS-CoV-2 em diferentes regiões do globo ainda são necessárias para que possamos entender os padrões e os determinantes de transmissão, o surgimento e a disseminação de novas variantes de SARS-CoV-2, assim como a eficácia das medidas de controle existentes, como a atualização de vacinas e novos tratamentos. Nesse estudo, abordagens imunológicas, epidemiológicas e de vigilância genômica por sequenciamento de nova geração foram combinadas para entender a dinâmica de circulação de SARS-CoV-2, durante os dois primeiros anos da pandemia em Campinas, assim como responder questões clínico/epidemiológicas relevantes, incluindo a possibilidade de reinfecção, o escape da ação de anticorpos neutralizantes, a infecção e transmissão por indivíduos vacinados e o impacto de medidas públicas de isolamento social e vacinação para minimizar as implicações clínicas e a transmissão comunitária das diferentes variantes de SARS-CoV-2.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

A presente tese de doutorado teve como objetivo principal caracterizar aspectos epidemiológicos, imunológicos, virais e clínicos da circulação do SARS-CoV-2 na cidade de Campinas, São Paulo. Para tanto, foram estabelecidos objetivos específicos abordados ao longo da tese.

2.2 Objetivos específicos

a. Avaliar a dinâmica de disseminação do SARS-CoV-2 e a evolução da COVID-19 em Campinas.
b. Avaliar o impacto das diferentes variantes do SARS-CoV-2 sobre as ações de vacinação e medidas não farmacológicas em diferentes momentos da pandemia.
c. Analisar a circulação de variantes de SARS-CoV-2 em situações clínico-epidemiológico específicas, como em reinfecções e surtos em locais isolados, ambientes hospitalares, infecção em grupos de risco e imunocomprometidos.
d. Analisar a capacidade de variantes virais de escaparem da ação de anticorpos neutralizantes induzidos por infecção prévia ou vacinação.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Apresentação e formatação da tese

A formatação da presente tese foi elaborada seguindo as Instruções Normativas do Programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular (disponível em: https://www.ib.unicamp.br/pos/proced_homologacao), sendo apresentados um tópico introdutório contendo uma revisão bibliográfica para o embasamento do estudo; um tópico com a justificativa para realização do estudo; os objetivos geral e específicos; um tópico de material e métodos unificados; os resultados divididos em capítulos, contendo os artigos publicados ou em submissão, com as respectivas referências bibliográficas; uma discussão também unificada fazendo referência a todos os capítulos apresentados; referências bibliográficas utilizadas na introdução, metodologias e discussão; descrição das colaborações realizadas pela aluna durante o período de realização do doutorado; e os anexos.

3.2 Amostras biológicas, dados clínico-epidemiológicos e Comitê de Ética

Foram utilizados espécimes clínicos residuais (soro e amostras de *swab* nasofaríngeo, amostras de aspirado traqueal e amostras de aspirado bronco alveolar), de exames realizados no Laboratório de Patologia Clínica (LPC) do Hospital das Clínicas da Unicamp (HC), do Centro de Saúde Comunitário da Unicamp (CECOM), do laboratório de apoio ao diagnóstico da COVID-19 Laboratório de Diagnóstico Molecular de Alto Desempenho (LDMAD), no período de abril de 2020 a fevereiro de 2022. Também foram coletadas amostras biológicas de soro, plasma, e *swab* nasofaríngeo para investigação de surtos e enviadas pelo Departamento de Vigilância em Saúde de Campinas (DEVISA). Além disso, foram coletados dados epidemiológicos e demográficos, tais como idade, sexo, data da coleta da amostra, data do início dos sintomas, gravidade dos sintomas, municipalidade, código de endereço postal (CEP), e dados específicos considerados relevantes para a investigação de surtos, e do impacto das campanhas de vacinação. Dados clínicos-epidemiológicos foram obtidos a partir dos sistemas eSUS-VE (https://datasus.saude.gov.br/esusve/), eSUS Notifica (https://datasus.saude.gov.br/notifica), SIVEP-Gripe

(https://sivepgripe.saude.gov.br/sivepgripe), junto ao Núcleo de Vigilância Epidemiológica (DVE) do HC Unicamp, CECOM, e DEVISA/Secretaria Municipal de Saúde (SMS). Foram explorados dados do Índice Paulista de Vulnerabilidade Social (IPVS), disponíveis em https://ipvs.seade.gov.br/view/index.php, na aba “Principais Resultados”. O mapa da cidade de Campinas contendo as classificações do IPVS do SEAD, ano 2010, foi utilizado no Artigo 1 da presente tese, com algumas alterações.

Esse trabalho faz parte do projeto aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 31170720.3.0000.5404) intitulado “Utilização de amostras de contraprova de pacientes com COVID-19 para a caracterização de fatores de risco intrínsecos e o desenvolvimento de novas alternativas de diagnóstico e tratamento” coordenado pelo Prof. José Luiz P. Módena. Nos capítulos 2, 3, e 4, foram coletados os Termos de Concentimento Livre e Esclarecido (TCLEs) dos participantes. Para a vigilância genômica, o Comitê de Ética aprovou a dispensa do TCLE.

3.3 Isolamento Viral

Para a produção de controles positivos nos testes moleculares, e os ensaios de neutralização viral, foram isoladas diferentes linhagens de SARS-CoV-2 a partir de amostras respiratórias (*swab* nasofaríngeo, lavado bronco alveolar ou aspirado traqueal). O ensaio de isolamento também foi utilizado para avaliar a produção de partículas virais viáveis em casos suspeitos de reinfecção. Para o isolamento viral, 100µl de amostra respiratória foi diluída em meio de cultura DMEM (Dulbecco′s Modified Eagle′s Medium) (Cat. D6046, Sigma-Aldrich, EUA) na concentração 1:10, centrifugada a 12.000 xg a 4ºC, filtrada, e tratada com uma solução 10% de penicilina/estreptomicina (PS) (Cat. P4333, Sigma-Aldrich, EUA) e Anfotericina B (1:1) (Cat. A2942, Sigma-Aldrich, EUA). A diluição tratada foi incubada no gelo por 1 hora, em seguida inoculada em placas de 6 poços contendo células Vero CCL-81 (ATCC) com aproximadamente 80% de confluência mantidas em meio DMEM completo, suplementado com 10% de soro fetal bovino (SFB) (Cat. 12657029, Gibco, EUA) e 1% de penicilina/estreptomicina (PS), por 1 hora a 37ºC, 5% CO_2. Em seguida, o inóculo foi descartado, e foi adicionado meio DMEM completo novo. Acompanhamos essa cultura diariamente para observação do aparecimento de efeito citopático. O sobrenadante celular da primeira passagem foi centrifugado a 3000 x*g* a 4ºC, inoculado em outras duas passagens consecutivas em

células Vero, constituindo assim as segundas e terceiras passagens dos isolados das linhagens de SARS-CoV-2. Todos os isolamentos foram confirmados por reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (RT-qPCR), sequenciamento do genoma viral e, quando necessário, imunofluorescência. Os estoques produzidos foram titulados por ensaio de formação de placa de lise.

3.4 Ensaio de formação de placa de lise

A titulação dos estoques foi feita pelo ensaio de formação de placa de lise utilizando um protocolo padrão. Células Vero CCL-81 foram cultivadas em placas de 24 poços (4×10^5 células/mL). Uma alíquota de cada estoque ou isolado foi diluída serialmente na base de 10 (até 10^{-6}), adicionadas aos poços com monocamada de células e incubados por 1 hora a 37ºC com 5% CO_2. Em seguida, o inóculo foi retirado, e foi adicionado meio semissólido, consistindo de DMEM 1X, 1 % carboximetilcelulose (CMC) (Cat. C4888, Sigma-Aldrich, EUA), 5 % SFB, e 1 % PS. As placas foram incubadas a 37ºC, 5% CO_2, por 4 dias para a variante Gamma, e 3 dias para as demais linhagens. O meio semissólido foi descartado e as monocamadas foram fixadas com Paraformaldeído (Cat. P6148, Sigma-Aldrich, EUA) 8% durante 30 minutos, lavadas com água, e coradas com azul de metileno (Cat. M9140, Sigma-Aldrich, EUA) 1% por 10 a 15 minutos. Por fim, as placas foram contadas e o resultado foi dado em unidades formadoras de placas (PFU)/mL.

3.5 Extração de RNA e RT-qPCR

Para a avaliação da presença de RNA viral nas amostras respiratórias, e amostras oriundas do isolamento viral, foram realizadas a extração de RNA viral utilizando os kits QIAamp Viral RNA Mini Kit (Cat. 52906, Qiagen, EUA), ou Quick-DNA/RNA Viral Kit (Cat. D7020, Zymo Research, EUA), seguindo os protocolos dos fabricantes. E para identificação e quantificação da carga viral nos estoques de vírus foi realizado RT-qPCR utilizando TaqMan™ Fast Virus 1-Step Master Mix (Cat. 4444434, ThermoFisher Scientific, EUA) para o Gene E, seguindo o protocolo do fabricante, utilizando 3 uL de RNA extraído e termociclador Applied Biosystems® QuantStudio 3 (Cat. A28137, Applied Biosystems, EUA). Essa metodologia foi adaptada do protocolo de Chariteé, recomendada pela OMS (Corman *et al.*, 2020). As amostras oriundas do LPC e do LDMAD, foram processadas para extração de

RNA utilizando o sistema automatizado KingFisher e kits de extração MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kits (Cat. A 42352, ThermoFisher Scientific, EUA). E para detecção de RNA viral e o diagnóstico molecular por RT-qPCR, foi utilizado GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (Cat. IFMR-45, ELITECH Group), seguindo as especificações do fabricante.

3.6 Sequenciamento de SARS-CoV-2 utilizando a plataforma MinION

Com o intuito de estudar a variação genética do SARS-CoV-2 nas amostras investigadas, foi utilizado uma estratégia de sequenciamento que combina um painel de primers (ARTIC V3 e V4.1, disponíveis em https://artic.network/ncov-2019) e a plataforma MinION (Mk1B, Oxford Nanopore, Reino Unido). Para tanto, o RNA viral extraído, foi convertido em DNA complementar (cDNA) com a enzima de transcriptase reversa utilizando ProtoScript® II First Strand cDNA Synthesis Kit (Cat. E6560L, New England Biolabs, Reino Unido) e hexâmeros aleatórios *Random Hexamers* (Invitrogen, EUA). Foram utilizados 2 µL de cDNA para realização de PCR multiplex (Quick *et al.*, 2017) utilizando 2 pools de *primers* ARTIC V3 ou V4.1, A e B (10µM), e o kit Q5® High-Fidelity DNA Polymerase (Cat. M0491L, New England Biolabs, Reino Unido). Para o preparo da biblioteca, foi seguido um protocolo previamente descrito (Quick *et al.,* 2017; Candido *et al.*, 2020). Para começar, as amostras foram normalizadas, para isso foi feito a quantificação fluorométrica com Qubit 4 (Cat. Q33238, ThermoFisher, EUA), e o kit Qubit™ 1X dsDNA HS Assay Kit (Cat. Q33230, ThermoFisher, EUA). Foram adicionados 5 ng/uL de DNA de cada pool, para somar 10 ng/uL de DNA por amostra. Foi feito uma etapa de reparo das extremidades da dupla fita e adição de cauda poli-A com o kit NEBNext® Ultra II End repair/dA tailing (Cat. E7546L, New England Biolabs, Reino Unido), seguido da ligação dos *barcodes* da Nanopore, Native Barcoding Expansion 1-12, Native Barcoding Expansion 13-24, ou Native Barcoding Expansion 96 (Cat. EXP-NBD104, EXP-NBD114, EXP-NBD196, Oxford Nanopore Technologies, Reino Unido), utilizando o kit NEBNext® Ultra II Ligation Module (Cat. E7595L, New England Biolabs, Reino Unido). Foi utilizado o kit SQK-LSK109 (Oxford Nanopore Technologies, Reino Unido) e *flow cells* R9.5.1, FLO-MIN106 (Oxford Nanopore Technologies, Reino Unido).

Os dados das sequencias foram obtidos em formato FAST5, sendo em seguida convertidos em arquivos FASTQ (*Basecalling*), trimados e demultiplexados utilizando Guppy software v2.2.7, e ARTIC guppyplex para filtrar as *reads* por tamanho (400-700 bp) (https://artic.network/ncov-2019/ncov2019-bioinformatics-sop.html). Após a filtragem, foi feito indexação com Nanopolish, seguido de alinhamento com o genoma referência Whuhan-Hu-1 (GenBank MN908947.3) utilizando o programa Minimap2 e SAMTools (Li *et al*., 2009; Li, 2018; Hu *et al.*, 2021). Com os arquivos gerados, foi feito uma etapa de *variant calling*, ou chamada de variantes, para identificar variações como SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), indels (inserções ou deleções) e outras alterações no genoma em relação ao genoma de referência. Foi feita uma filtragem para remover variantes de baixa qualidade, e foi aceita cobertura mínima de 20x. Foram gerados arquivos VCF que por fim, foram utilizados para gerar as sequências consenso utilizando BCFTools (Li *et al.*, 2011; Danecek *et al.,* 2021).

3.7 Sequenciamento de SARS-CoV-2 utilizando a plataforma Illumina

Ainda com o intuito de estudar a variação genética do SARS-CoV-2, também foi utilizada a plataforma Illumina para sequenciamento de nova geração do genoma viral. Para isso, foi utilizado o kit Illumina COVIDSeq Test (Cat. 20049393, Illumina, EUA), seguindo o protocolo do fabricante, sendo que na PCR multiplex, foram utilizados 2,4 µL dos conjuntos de iniciadores do ARTIC, V3 e V4.1 (10 µM). As bibliotecas foram sequenciadas utilizando o MiSeq™ (Illumina, EUA) localizado no Laboratório Central de Tecnologias de Alto Desempenho em Ciências da Vida (LaCTAD). Foram gerados arquivos FASTQ, os quais foram processados utilizando uma *pipeline* de bioinformática específica para SARS-CoV-2 previamente descrita, denominada *HaVOC*, (*Helsinki University analyzer for Variants of Concern*) a qual utiliza ferramentas gratuitas disponíveis no Bioconda (Nguyen *et al.,* 2021). Resumidamente, os arquivos FASTQ de *reads foward* (R1) e *reverse* (R2) foram pré-processados utilizando fastp (Chen *et al.*, 2018), e em seguida os *reads* foram alinhados com o genoma referência Whuhan-Hu-1 (GenBank MN908947.3) com o programa BWA (*Burrows-Wheeler Alignment*) (Li e Durbin, 2009). Em seguida foi utilizado Sambamba (Tarasov *et al.,* 2015) ou BAMTools (Barnett *et al.*, 2011) para

processamento dos alinhamentos, BEDtools para considerar apenas as regiões com cobertura acima de 30x, e a chamada de variantes utilizando o programa LoFreq (Wilm *et al.*, 2012). As sequências de consenso foram geradas utilizando BCFTools e SAMTools (Li *et al.*, 2011), as quais foram analisadas pelo Pangolin para classificação das linhagens (O'Tolole *et al.*, 2021).

As sequências obtidas foram depositadas e disponibilizadas no GISAID (www.gisaid.org), e os metadados e números de identificação estão apresentados no Anexo I da presente tese.

3.8 *Datasets* e análise filogenética

Foi utilizado o Pangolin (github.com/hCoV-2019/pangolin) (O'Tolole *et al.*, 2021) e CoV-GLUE (https://cov-glue.cvr.gla.ac.uk) para identificação das diferentes linhagens e identificação de mutações, e a plataforma Nextclade (https://clades.nextstrain.org/) para identificação de clados. As variantes Gamma e Alpha de SARS-CoV-2 abordadas nos capítulos I e III da presente tese foram analisadas separadamente, e alinhadas a um conjunto de sequências genômicas representativas e não redundantes das mesmas espécies virais disponíveis no GISAID. Foram utilizadas apenas sequências com cobertura ≥75%.

3.8.1 Variante Alfa (B.1.1.7)

Para contextualizar os genomas da variante Alpha dos surtos investigados nesse trabalho, foram utilizados 255 genomas oriundos do Brasil e outros países, como Portugal, Reino Unido, EUA, Espanha, França e Itália, que estavam disponíveis no GISAID até o dia 21 de junho de 2021. Sequências duplicadas foram removidas dos alinhamentos. Os dados de identificação (ID), autores e laboratório estão disponíveis na tabela S2 do artigo 4 (*Table S2*) do capítulo III, disponível em: https://www.mdpi.com/article/10.3390/v13112127/s1. Os alinhamentos foram feitos com os programas MAFFT v7.309 (Katoh e Standley, 2013), e foram removidas as regiões 3' e 5' não traduzidas (UTR, do inglês *Untranslated Regions*) utilizando o programa Geneious Prime 2020.2.3, nas posições 29.765 (códon de parada TGA) e 266 (códon de início ATG). Para inferir a classificação taxonômica das variantes de SARS-CoV-2, bem como seus processos evolutivos, as árvores filogenéticas foram

construídas por métodos probabilísticos de máxima verossimilhança, e os melhores modelos de substituição para análises filogenéticas foram determinados utilizando o programa IQ-TREE com o ModelFinder (Nguyen *et al.*, 2015). Os suportes estatísticos das árvores filogenéticas foram calculados com Bootstrap (1000 *ultrafast bootstrap*), e as árvores visualizadas com o Figtree v1.4.4 (http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/).

3.8.2 Variante Gamma (P.1)

Para contextualizar os genomas da variante Gamma das amostras de Campinas desse trabalho, foram utilizados 2.937 genomas oriundos de Campinas e outras cidades do estado de São Paulo e do Brasil, juntamente com 111 sequências obtidas nesse estudo. Para a seleção dos genomas representativos do Brasil, foi utilizada uma metodologia previamente descrita (Fonseca *et al*., 2022). Resumidamente, foram baixadas sequências disponíveis no GISAID até o dia 6 de junho de 2023, que abrangem o período deste estudo (de abril de 2020 a fevereiro de 2022), e que possuíam data completa de coleta e alta cobertura, utilizando a opção 'Input for the Augur pipeline'. O Pangolin foi usado para gerar relatórios de linhagem por linha de comando (https://cov-lineages.org/resources/pangolin/usage.html). Dados epidemiológicos de todos os estados brasileiros foram baixados do OpenDataSUS. As informações de estado e datas de coleta foram filtradas e concatenadas em um único arquivo. Em seguida, dados epidemiológicos e genômicos foram reunidos para calcular um número proporcional de sequências a serem amostradas aleatoriamente de acordo com o número estimado de casos de COVID-19 por semana em cada estado durante os períodos específicos definidos neste estudo. Todos os conjuntos de dados foram compilados usando o RStudio, juntamente com a amostragem de sequências. O conjunto de dados foi alinhado usando a opção de linha de comando do Pangolin --alignment (https://cov-lineages.org/resources/pangolin/usage.html) e foram removidas as regiões 3’ e 5’ UTR nas posições 29.765 (códon de parada TGA) e 266 (códon de início ATG) utilizando o programa AliView (Larsson *et al.*, 2014). Todas as sequências foram renomeadas para incluir identificadores EPI_ISL e a data de coleta (|aaaa-mm-dd) ao final das etiquetas. A reconstrução da árvore filogenética por máxima verossimilhança foi realizada usando o IQ-TREE v.2.2.2.6 (Minh *et al.*,

2020), com a opção ModelFinder, Bootstrap Ultrafast com 1.000 replicatas (Kalyaanamoorthy *et al.,* 2017) e teste de razão de verossimilhança aproximada de Shimodaira-Hasegawa (SH-aLRT) com 1.000 replicatas para avaliar as incertezas nos ramos da árvore (Guindon *et al*., 2010). Em seguida, utilizamos o TempEst v.1.5.3 para examinar distâncias raiz-ponta e identificar sequências com problemas que precisavam ser removidas dos conjuntos de dados (Rambaut *et al.*, 2016). A árvore final foi enraizada usando o Figtree v1.4.4 (https://github.com/rambaut/figtree/releases/tag/v1.4.4).

3.9 Análises epidemiológicas e geográficas

Dados epidemiológicos do SIVEP-Gripe e OpenDataSUS (https://opendatasus.saude.gov.br/), foram consultados para acompanhamento do número de casos no Brasil e no estado de São Paulo. Para o cálculo do Rt *(Reproduction number*) em Campinas foram utilizados dados de SRAG publicamente disponíveis. Foram estimados índices epidemiológicos de incidência, mortalidade, e letalidade, na cidade de Campinas, entre março de 2020 e fevereiro de 2022, utilizando RStudio e o pacote EpiEstim (Cori *et al.*, 2013; Thompson *et al.*, 2019). Para inferir a geolocalização das amostras sequenciadas, os dados de CEP foram utilizados para obtenção da latitude e longitude utilizando Apps Script e Nominatim API (https://nominatim.org/), o qual utiliza dados do projeto OpenStreetMaps®.

3.10 Teste de neutralização viral (VNT)

Para avaliar a presença de Nabs frente ao vírus, foram realizados ensaios de VNT com amostras de soro ou plasma inativadas a 56ºC por 30 minutos, como previamente descrito na literatura, com modificações (Araujo *et al*., 2020). Foram feitas diluições seriadas (1:20 a 1:2560), e as amostras inativadas e diluídas foram incubadas por 1h a 37ºC com meio de cultura contendo 10^3 unidades formadoras de placa (PFU) por mL, de SARS-CoV-2. Após a incubação, 120 uL das soluções foi transferida para uma placa de 96 poços, com monocamada de células Vero (5 x 10^5 células/mL), onde o valor final da MOI (*multiplicity of infection*) é 0,01, e incubado por 1h a 37ºC, 5% CO_2. Em seguida, a solução contendo vírus foi removida, e foi acrescentado meio novo (DEMEM suplementado com 10% de SFB e 1% PS). O valor de VNT_{50} foi calculado a partir do valor recíproco à diluição que apresentou

50% de proteção contra efeito citopático, com base no número inicial de partículas inoculadas, e no número de poços onde são observados efeitos. Todas as amostras foram testadas em duplicatas, em dois experimentos independentes.

3.11 Ensaio de neutralização viral por redução de placa de lise (PRNT)

Para avaliar e quantificar Nabs frente ao vírus, foram realizados ensaios de PRNT com amostras de soro ou plasma inativadas a 56ºC por 30 minutos, como previamente descrito na literatura, com modificações (Wölfel *et al*., 2020). Foram utilizadas amostras de soro ou plasma, com as quais foram feitas diluições seriadas, e incubadas com uma solução contendo $2x10^5$ PFU/mL de vírus por 1h a 37ºC. As soluções foram adicionadas a monocamadas de células Vero e incubadas por 1h a 37ºC, 5% CO_2. Em seguida, foi adicionado 1 mL de meio semi-sólido que consiste em uma solução de DEMEM contendo 1% de CMC, 5% SFB e 1% PS. As placas foram incubadas a 37ºC, 5% CO_2, por 3 dias para as linhagens B.1 e Alpha, e por 4 dias para a Gamma. Por fim, a monocamada foi fixada com paraformaldeído 8% durante 30 minutos após a remoção do meio, lavadas com água, e coradas com azul de metileno (Cat. M9140, Sigma-Aldrich, EUA) 1% 5 a 10 minutos. O valor de $PRNT_{50}$ foi calculado a partir da recíproca da diluição que apresentou 50% de redução do número de placas formadas, comparando com o controle positivo (de Souza *et al*., 2021).

3.12 Imunofluorescência

Foi realizado ensaio de imunofluorescência para confirmar o isolamento das variantes virais a partir de amostras clínicas. Para isso, células Vero foram plaqueadas sobre lamínulas silanizadas dentro de placas de 24 poços, infectadas com MOI 1 de cada isolado, e incubadas por 24 horas. Em seguida, foi retirado o sobrenadante, e as lamínulas foram fixadas com paraformaldeído 4% durante 20 minutos em temperatura ambiente. As lamínulas foram lavadas com solução salina tamponada com fosfato (PBS) contendo Tween 0.1 M, pH 7,4, incubadas com glicina por 10 minutos, e em seguida tratadas com uma solução de 1% de albumina sérica bovina (BSA) (Cat. A9418, Sigma-Aldrich, EUA). As células foram incubadas overnight com o anticorpo IgG1 recombinante humano contra a proteína S,

subunidade RBD da S1, do SARS-CoV-2 (clone HC2001, Cat. A02038, GenScript, EUA) ou com o anticorpo IgG de coelho contra a proteína N do SARS-CoV-2 (clone 001, Cat. 40143-R001, Sino Biological, EUA), ambos diluídos 1:100 em BSA 1%. As lamínulas foram lavadas e incubadas com os anticorpos secundários (IgG de cabra anti-humano conjugado com Alexa Fluor 488, Cat. A11013, Thermo Fisher Scientific, EUA; ou IgG de burro anti-coelho conjugado com Alexa Fluor 594, Cat. A21207, Thermo Fisher Scientific, EUA) diluídos 1:500 e incubados por 2 horas. Em seguida foram lavadas, e as células coradas com Dicloridrato de 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI; Cat. SC3598, Santa Cruz Biotechnology, EUA) para visualização do núcleo, e Alexa Fluor faloidina 647 (Cat. A22287, Thermo Fisher Scientific, EUA) para visualização de F-actina. As imagens foram adquiridas por microscopia confocal, utilizando o microscópio invertido Axio Observer 7 Zeiss LSM 880 com detector Airyscan (Carl Zeiss, Alemanha), na objetiva de 63x/1.4 com zoom óptico de 4x. Os arquivos raw em formato .czi foram automaticamente processados em imagens deconvoluídas pelo programa Zen Black 2.3 do microscópio. As figuras foram montadas utilizando o software ImageJ, Fiji (Schindelin *et al.*, 2012).

3.13 Análises estatísticas

Para as comparações de VNT_{50} dos plasmas entre as linhagens B, P.1 e de indivíduos convalescentes, foi utilizado um modelo de distribuição binominal baseado na proporção de amostras de cada categoria (diferenças >0, diferenças ≤0) utilizando RStudio versão 1.3.1073. As médias dos testes de PRNT50 foram obtidas a partir dos resultados de duplicatas técnicas, e a diferença estatística entre os grupos foi obtida através de one-way ANOVA seguido do teste de Tukey utilizando o GraphPad Prism versão 8.2.1. Também foi utilizado RStudio (v 1.3.1) para comparar as cargas virais entre pacientes vacinados com ChAdOx1 e Coronavac, através de análise não-paramétrica com o teste de Mann-Whitney U, com correção pós-hoc de Dunn-Bonferroni. Nesses testes, consideramos significância estatística como um valor de $p < 0,05$. Nas análises dos dados epidemiológicos, foram utilizados os pacotes *ggstatsplot* (Patil *et al.*, 2021) e *EpiEstim* (Cori *et al.*, 2013) no RStudio v.4.3.0

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos durante este doutorado foram divididos em quatro grandes capítulos, de acordo com seus objetivos. Todos eles foram produzidos em colaboração com instituições parceiras, como a Universidade Federal de Roraima (UFRR), Instituto de Medicina Tropical (IMT) da Universidade de São Paulo (USP), o projeto Brasil-Reino-Unido para a descoberta, diagnóstico, genômica e epidemiologia de arbovirus (CADDE), Imperial College London, Oxford University, DEVISA/SMS, NVE HC-Unicamp, CECOM, LPC HC-Unicamp, Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM), Faculdade de Medicina da USP de Ribeirão Preto, University of Texas Medical Branch e Universidade Feevale em Novo Hamburgo.

O capítulo I traz um estudo, aqui apresentado no formato de artigo, que utilizou ferramentas de vigilância genômica e epidemiológica para avaliar o impacto da vacinação, das NPIs e de outras medidas governamentais na transmissão e evolução clínica após infecção por diferentes variantes de SARS-CoV-2 durante os dois primeiros anos da pandemia, de abril de 2020 a fevereiro de 2022, nas diferentes regiões da cidade de Campinas. Esse trabalho está sendo preparado para publicação.

AMORIM, M. R. *et al.* The evaluation of non-pharmacological interventions against COVID-19 in Campinas City, São Paulo State Brazil, using genomic and epidemiological data.

Como discutido anteriormente, umas das questões discutidas no decorrer da pandemia foi a possibilidade de ocorrer reinfecções, e o impacto disso para profissionais de saúde e nos protocolos de prevenção. Dessa forma, o capítulo II apresenta os resultados obtidos a partir da investigação de casos de reinfecções em profissionais da área da saúde em Campinas entre abril e outubro de 2020. Uma tabela contendo o levantamento de casos de reinfecções no período de realização da tese, na comunidade da Unicamp, é apresentado na Tabela 1.

Amorim M.R.; de Souza W.M.; Barros A. *et al.* Respiratory Viral Shedding in Healthcare Workers Reinfected with SARS-CoV-2, Brazil, 2020. *Emerging Infectious Diseases*. 2021;27(6):1737-1740.

https://doi.org/10.3201/eid2706.210558

O surgimento das VOCs no final de 2020 e início de 2021, gerou grande preocupação mundial e ilustrou a grande variabilidade e capacidade de SARS-CoV-2 de se adaptar a condições desfavoráveis, onde parte da população já tinha sido previamente exposta. O capítulo III traz os resultados de dois estudos que avaliaram o impacto das novas variantes virais, então denominadas VOCs Alpha e Gamma, frente a anticorpos neutralizantes produzidos após infecção natural ou imunização:

> de Souza W.M.; Amorim M.R.; Sesti-Costa R. *et al.* Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study. *Lancet Microbe*. 2021: 1-9.
>
> https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00129-4
>
> de Souza,W.M.; Muraro, S.P.; Souza, G.F.; Amorim, M.R.; Sesti-Costa, R. *et al.* Clusters of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Infection after Vaccination with Adenovirus-Vectored and Inactivated Vaccines. *Viruses* 2021, 13, 2127.
>
> https://doi.org/10.3390/v13112127

Por fim, um dos diversos desafios enfrentados durante a pandemia da COVID-19, foi a infecção crônica em pessoas imunocomprometidas, que podem colaborar com a seleção de mutações e surgimento de novas variantes virais, como descrito anteriormente. No último capítulo, são apresentados os resultados de um estudo de caso de infecção persistente pela variante Gamma em paciente imunocomprometido com uma condição genética rara, conduzido em parceria com o Hospital das Clínicas da Unicamp:

> Sabino, J.S.; Amorim, M.R.; de Souza, W.M. *et al.* Clearance of Persistent SARS-CoV-2 RNA Detection in a NFκB-Deficient Patient in Association with the Ingestion of Human Breast Milk: A Case Report. *Viruses* 2022, *14*, 1042.
>
> https://doi.org/10.3390/v14051042

CAPÍTULO I: Epidemiologia e evolução genômica do vírus SARS-CoV-2 diante da adoção de medidas públicas de prevenção em Campinas, São Paulo, Brasil

Os resultados aqui apresentados foram produzidos entre o período que compreendeu o início da pandemia na cidade de Campinas, em março de 2020, até a circulação da variante Ômicron, em fevereiro de 2022. Os dados demográficos e epidemiológicos foram obtidos de sistemas de informações oficiais, e através de colaborações com a DEVISA/SMS, NVE HC-Unicamp, HC-Unicamp e CECOM. Os dados genômicos foram obtidos por sequenciamento de nova geração. A análise dos dados, produção das figuras e resultados foram realizados no Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes (LEVE) da Unicamp, em Campinas, e na Imperial College London, no Campus de White City em Londres, Reino Unido, durante um intercâmbio realizado com o apoio da Diretoria Executiva de Relações Internacionais da Unicamp (DERI) e do Programas de Becas Santander (edital DERI 41/2022) de fevereiro a abril de 2023, sob a orientação do Professor Dr. Nuno Faria.

Para o sequenciamento do genoma viral, foram utilizadas duas metodologias, a plataforma MinION da Oxford Nanopore, com protocolo previamente estabelecido, e a plataforma Illumina. Para ambos, foram utilizados conjuntos de iniciadores (*primers*) da ARTIC, V3, V4.1 e V5.1. Foram produzidas durante o período de doutorado, 594 sequências utilizando o MinION, e 367 sequências utilizando o kit da Illumina CovidSeq, com o sequenciador MiSeq, um total de 961 sequências com cobertura acima de 70%, abrangendo não só a cidade de Campinas (n=785) como também outras cidades da região (n=176), incluindo Sumaré, Hortolândia, Paulínia, Valinhos, Artur Nogueira, entre outras (Anexo I). Os genomas foram produzidos em diferentes momentos da pandemia, e fizeram parte dos diferentes estudos apresentados nesta tese de doutorado e em outras colaborações (Candido *et al.* 2020; Toledo-Teixeira *et al.*, 2023). Para este capítulo em específico, foram geradas 781 novas sequências oriundas de Campinas. Para as análises filogenéticas e de frequência das diferentes linhagens e VOCs no decorrer da pandemia em Campinas, também foram utilizadas sequências disponíveis no banco de dados do GISAID, produzidas por outros grupos de pesquisa, citados no Anexo II (n =105).

Artigo 1: AMORIM, MR. *et al.*

Research Article

The evaluation of non-pharmacological interventions against COVID-19 in Campinas City, São Paulo State Brazil, using genomic and epidemiological data

Authors:

Mariene Ribeiro Amorim[1], Gustavo Narvaes Guimarães[2], Ingra Claro Morales[3,4], Daniel Augusto de Toledo Teixeira[1], Priscilla Pascoal Barbosa[1], Luciana Souto Mofatto[5], Darlan da Silva Candido[4], Julia Forato[1], Natalia Brunetti[1], Aline Vieira[1], Bruno Brito[1], Andreza de Souza Santos[6], Carlos Prete Junior[7], Rodrigo Bastos Mesquita[8], Bianca Costa Silva[3], Milena Gomes Cabral[3], Lucas Augusto Moyses Franco[3], Filipe Romero Rebello Moreira[4], Kamila Cristina Silva Krywacz[9], Gisele Audrei Pedroso[9], Barbara Nogueira[9], Carolina Carvalho Ribeiro do Vale[9], Guilherme de Moraes Nóbrega[10], Maria Laura Costa[10], Andrea Paula Bruno Von Zuben[11], Daiane Cristina Pereira Morato[11], Maria Luiza Moretti[11,12], Alice de Oliveira Jacomo Armbrust[11], Alessandro dos Santos Farias[1], Fernando Rosado Spilki[13], Magnum Nueldo Nunes dos Santos[9], Patricia Asfora Falabella Leme[14], Rodrigo Nogueira Angerami[11,], Ester Cerdeira Sabino[3,15], André Schwambach Vieira[2,16] , William Marciel de Souza[17,18,19], Fabiana Granja[20], Nuno Rodrigues Faria[3,4,21], José Luiz Proenca-Modena[1*].

[1] Departamento de Genética e Evolução, Microbiologia e Imunologia, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

[2] Laboratório de Diagnóstico Molecular de Alto Desempenho, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

[3] Departamento de Moléstias Infecciosas e Parasitárias, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

[4] MRC Centre for Global Infectious Disease Analysis and Department of Infectious Disease Epidemiology, Jameel Institute, School of Public Health, Imperial College London, London, UK.

[5] Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, Brazil.

[6] Brazilian Studies Programme, Latin American Centre, University of Oxford, Oxford, UK.

[7] Departamento de Engenharia de Sistemas Eletrônicos, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.

[8] Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

[9] Laboratório de Patologia Clínica, Hospital de Clínicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

[10] Departamento de Obstetrícia e Ginecologia, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.

[11] Departamento de Vigilância em Saúde, Secretaria Municipal de Saúde, Campinas, São Paulo, Brazil.
[12] Laboratório de Epidemiologia Molecular e Doenças Infecciosas da Faculdade de Ciências Médicas da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp
[13] One Health Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo, RS, Brazil.
[14] Coordenadoria Geral da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.
[15] Instituto de Medicina Tropical da Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil.
[16] Departamento de Biologia Estrutural e Funcional, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil.
[17] Department of Microbiology, Immunology and Molecular Genetics, University of Kentucky, Lexington, KY, USA.
[18] Department of Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch, Galveston, USA.
[19] World Reference Center for Emerging Viruses and Arboviruses, University of Texas Medical Branch, Galveston, USA.
[20] Centro de Estudo da Biodiversidade, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, Brazil.
[21] Department of Biology, University of Oxford, Oxford, UK.

* Corresponding author

Keywords: SARS-CoV-2, COVID19, genomics, phylogenetics, epidemiology

Abstract

Brazil was an important epicenter of Coronavirus disease 19 (COVID-19) in Latin America with ~37 million cases and over 704 thousand deaths reported. Also, some SARS-CoV-2 variants emerged in Brazil, such as Gamma and Zeta. Campinas is a densely populated city, near São Paulo city, and a hub for domestic and international air travel in Brazil. In this study, we sequenced 717 new genomes of SARS-CoV-2 and combined genomic and epidemiological data to evaluate the dynamics of SARS-CoV-2 circulation and the impact of non-pharmaceutical intervention measures in mitigating clinical consequences and spread of different lineages of SARS-CoV-2 in Campinas city from April 2020 until February 2022. We observed that pandemic evolution was congruent to the population adherence to non-pharmaceutical measures in 2020. However, the emergency of variants of concern, especially Gamma, together with the waning of social isolation after loosening of protection rules, were followed by increased severity and deaths in March 2021. In addition, the quantity of severe cases and the median age of hospitalized patients decreased after the COVID-19 vaccination campaign. Our results reinforce the importance of performing genomic surveillance together with epidemiological surveillance to follow

disease evolution, especially during the transition between stricter to less strict quarantine rules, once the introduction of new variants may require adaptations.

Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) can cause the Coronavirus disease 2019 (COVID-19), which has caused 771 million cases and almost 7 million deaths worldwide up to September 2023 [1,2]. COVID-19 is usually characterized by acute respiratory distress syndrome, systemic thrombotic microangiopathy, and multiple organ failure [3,4]. A significant proportion of COVID-19 patients has experienced a wide range of new, returning, or ongoing health problems (i.e., Long COVID) [5].

SARS-CoV-2 is an enveloped, positive-sense single-stranded RNA virus, prone to mutations, despite the presence of a non-structural protein (NSP14) able to remove mismatched nucleotides by a metal ion-dependent mechanism [6]. As a result, SARS-CoV-2 evolved very quickly, and more than 600 SARS-CoV-2 lineages have been described in the Pango Lineage System [6,7]. Brazil has reported 37.7 million cases and 700 thousand deaths up to September 2023[9], the second highest number of cumulative deaths worldwide, probably due to the overloading of healthcare systems and the emergence of Gamma lineage [10,16]. Also, this country was as an important hotspot for the emergence of SARS-CoV-2 lineages[8], such as B.1.1.28, P.1 (Gamma variant) and P.2 (Zeta variant) were first described in Brazil [10–15].

Campinas city is in the Southwest of Brazil, located ~ 90 kilometers (km) away from the capital São Paulo. Campinas city is the third most populated city of the state, with approximately 1.22 million residents, a bustling metropolitan city intricately linked to neighboring urban centers through well-established highways and public transportation systems. In addition, this city harbors an international airport, one of the most important hubs for domestic and international air travel in Latin America [17,18]. During the pandemic, Campinas city strictly followed SP Plan, a government plan of social isolation to mitigate SARS-CoV-2 transmission. This plan consisted of the recommendation for the use of non-pharmaceutical interventions (NPIs), as well as strategies for commerce reopening and social distancing based on healthcare systems capability, economic, and social criteria. It was characterized by more strict

to less strict phases, named: phase 1 (Red flag), phase 2 (Orange flag), phase 3 (Yellow flag), phase 4 (Green flag), and finally a transition phase described as 'normal controlled' [19,20]. The Brazilian government began vaccinating people against COVID-19 on 17 January 2021 through the Brazilian Unified Health System (SUS), totalizing 82% of the population vaccinated with two doses or single dose vaccine as for January 2023. Campinas was the second city in São Paulo State to begin vaccinating the population against COVID-19. The first vaccine dose was applied on 17 January 2021. By when over 85% of the population over 6 months old in Campinas has been completely vaccinated against COVID-19 [21]. However, the impact of SP state measures to restrict SARS-CoV-2 dissemination in different moments of pandemic and under different vaccination coverage remains understudied.

In this study, we sequenced 717 new genomes of SARS-CoV-2 and combined genomic and epidemiological data to evaluate the dynamics of SARS-CoV-2 circulation in the city and the impact of SP Plan, and vaccination in mitigating clinical consequences and spread of different lineages of SARS-CoV-2 in Campinas city from April 2020 until February 2022. A partnership was established with the municipal health surveillance department aimed at investigating virus dynamics during the different phases of the SP Plan. The study emphasizes the importance of the vaccination campaign in mitigating the impacts of COVID-19, alongside assessing the efficacy of non-pharmaceutical interventions (NPIs) at different junctures within the city.

Methods

Ethics: All the procedures in this study were approved by the University of Campinas (Unicamp) Ethics Committee, Brazil, protocol number CAAE: 31170720.3.0000.5404.

Sampling and metadata collection: Residual respiratory samples (e.g., nasopharyngeal swab, tracheal aspirate and bronchoalveolar aspirate) from symptomatic and asymptomatic patients were obtained from the Laboratory of Clinical Pathology of the Unicamp Clinical Hospital and from the Department of Health Surveillance of Campinas, between April 2020 and February 2022. Samples data collection included collection date, onset of symptoms, sex, age, hospitalization, disease severity, patient outcome, postal code, and cycle threshold values. We used

the postal code to select samples from residents of all Campinas Health districts zones, classified as East (E), North (N), South (S), South-west (SW) and Northwest (NW). Samples were selected to have at least 0.1% of all positive cases sequenced during all epidemiological weeks, including all regions of Campinas. Samples were tested positive for SARS-CoV-2 by Real Time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

Epidemiological and demographic data*:* The Department of Health Surveillance provided demographic and vaccination data by health district, and estimated inhabitants per health district is available on *Sistemas de Informações em Saúde* - Tabnet Campinas (https://saude.campinas.sp.gov.br/tabnet-home/index.htm). Data on COVID-19 number of cases in Brazilian cities is also publicly available on https://covid.saude.gov.br/ and OpenDataSUS (https://opendatasus.saude.gov.br/dataset/notificacoes-de-sindrome-gripal-leve-2022). Social vulnerability data from Fundação SEADE was accessed on https://ipvs.seade.gov.br/view/index.php. Severe acute respiratory infections (SARI) data available on DataSUS was used to estimate the effective reproduction number over time (R_t) using EpiEstim package in RStudio [22]. SARI data were also used to assess symptoms frequency and age of severe patients. Information about NPIs and political measures for the construction of the timeline of events were collected from Campinas (https://covid-19.campinas.sp.gov.br/) and São Paulo (https://www.prefeitura.sp.gov.br/cidade/secretarias/saude/vigilancia_em_saude/doencas_e_agravos/coronavirus/index.php?p=291766) city hall websites, and from de Souza Santos et al. (2021) dataset [22,23]. Data of São Paulo state stringency index was obtained from The Oxford Covid-19 Government Response Tracker (OxCGRT), available on https://github.com/OxCGRT [24].

Geoprocessing: Samples postal codes metadata were used to access longitude and latitude information, using Nominatim API (https://nominatim.org/), which uses OpenStreetMAp data. Unavailable or mistyped postal codes were reported as unknown. Maps were generated in RStudio using the packages geobr and sf [25–27]. Campinas city shapefiles were obtained from *Campinas Geoambiental* web page (https://geoambiental.campinas.sp.gov.br).

RNA extraction and RT-qPCR*:* RNA extraction was performed using Quick-DNA/RNA viral kit (Zymo Research, USA) according to the manufacturer's instructions, or KingFisher Automated Purification and Extraction (Thermo Fisher, USA) with MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kits (Thermo Fisher Scientific, USA). Samples were tested by RT-qPCR targeting the envelope gene (E) as described elsewhere [28], or by GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (Catalog number: IFMR-45, OSANG Healthcare, Korea) which detects the RNA-dependent RNA polymerase (RdRP), nucleocapsid (N) and envelope gene (E), according to the manufacturer's instructions. Samples from Unicamp Health Centers were processed and tested in theLaboratory of Clinical Pathology of Unicamp Clinical Hospital (HC) and in the Unicamp High Performance Molecular Diagnostic Laboratory.

Whole Genome Sequencing and genotyping*:* Whole SARS-CoV-2 genomes were obtained by two methods. A total of 481 genomes (>70% coverage) were generated by MinION sequencing (Oxford Nanopore) as previously described, in the Laboratory of Emerging Viruses of Unicamp and at the Tropical Diseases Laboratory of the University of São Paulo using ARTIC V3 and V4.1 primers for targeted multiplex-PCR amplification, and R9.4.1 flow cells. Raw fast5 data was basecalled, demultiplexed and trimmed with Guppy. Fastq files were filtered and checked for quality with ARTIC guppyplex, mapped to Wuhan-Hu-1 reference genome (GenBank MN908973.3) with minimap2 [29] and converted to BAM files using SAMtools [30]. Nanopolish [31] was used for variant calling and assembly of consensus sequences. In addition, 304 genomes (>70% coverage) were generated by Illumina COVIDSeq protocol, following the manufacturer instructions, using ARTIC primers V3 and V4.1, and HAVoC bioinformatic pipeline for genome assembly as previously described [32]. Phylogenetic Assignment of Named Global Outbreak LINeages (Pangolin) v.4.3, was used to access the SARS-CoV-2 lineages [7]. Study periods of variant prevalence were established based on genomic observations, as following: 1) “non-VOC (variant of concern) and Zeta” from April to December 2020; 2) “Gamma" from January to August 2021; 3) “Delta” from September to November 2021; 4) “Omicron" from December 2021 to February 2022. Additional 105 genomes from Campinas, which were available on GISAID at the same periods evaluated in this study, were considered (EPI_SET_240402nm).

Phylogenetic analysis: A genome dataset of SARS-CoV-2, VOC Gamma, sequences was generated as previously described, in order to get a good representativity of sequences from all the Brazilian states [33]. Briefly, GISAID Initiative (Global Initiative on Sharing All Influenza Data) available sequences comprehending this study period (April 2020 to February 2022) which had complete collection date and high coverage, were downloaded using the option 'Input for the Augur pipeline'. Pangolin command line was used to generate lineage reports. Epidemiological data from all Brazilian states were downloaded from Open dataSUS. Information of state and collection dates were filtered and concatenated into a single file. Then, epidemiological data and genomic data were gathered to calculate a proportional number of sequences to be randomly sampled according to the number of estimated COVID–19 cases per week in each state during specific periods defined in this study. All datasets were collated using RStudio, along with sequence sampling. The dataset was aligned using Pangolin command line option -- *alignment* (https://cov-lineages.org/resources/pangolin/usage.html), and trimmed at the 29,765 (stop codon TGA) and 266 (start codon ATG) positions. All sequences were renamed to include EPI_ISL identifiers and collection date (|yyyy-mm-dd) at the end of the labels. Maximum-likelihood phylogenetic tree reconstruction was performed using IQ-TREE v.2.2.2.6 [34], with the ModelFinder option [35], Ultrafast Bootstrap with 1,000 replicates, and Shimoidara–Hasegawa-like approximate likelihood ratio test (SH-aLRT) with 1,000 replicates, to evaluate tree branches uncertainties. Next, we employed TempEst v.1.5.3 [36] to examine root-to-tip distances and identify sequences with issues that needed removal from the datasets, as outlined in prior references. The final tree was rooted using Figtree v1.4.4 (https://github.com/rambaut/figtree/releases/tag/v1.4.4) [37,38].

Results

SP Plan and other NPIs were effective during the beginning of the COVID-19 pandemic in Campinas, Brazil

To evaluate the impact of SP Plan and NPIs to restrict SARS-CoV-2 dissemination in Campinas, we built a timeline of events showing the SP plan phases and other milestones, both associated with the adoption of NPIs and in relation to the pandemic in Campinas city (**Fig. 1a**). Also, we collected data from the five health

districts, which are N, E, S, SW and NW (**Fig. 1b**). In March 2020, the recommended NPIs included suspension of huge public gathering events, recommendations to reduce public gathering on commerce and public transportation, closure of bars, cinemas and other cultural facilities, closure of public schools and universities, public cultural facilities, and public sports squares (**Fig. 1a and Supplementary figure 1**). The SP plan phases and NPIs were compared with State level stringency and isolation indexes (**Fig. 1c**), as well as the reproductive number, incidence and mortality rates caused by SARS-CoV-2 in the different heath districts of Campinas city from the first reported cases in March 2020, until February 2022 (**Fig. 1d-f**). We found that the average of social isolation reached 59% in March 2020, and stayed around 50% in April (median = 50%; average = 50.7%). Also, the Effective Reproduction number (R_t), which started over 2, dropped to measures below 1 in April (**Fig. 1d**), indicating that the NPIs (e.g., mask recommendation, suspension of huge public gathering events, and quarantine adoption) in Campinas contributed to reduce the SARS-CoV-2 transmission during the beginning of the pandemic.

The average of social isolation in Campinas started to decrease to values above 50% in May 2020. Consequently, the number of cases and mortality rate increased 207% from May to June in Campinas city, and it continued increasing until July 2020. In June 2020 there was a peak of mortality rate of 2020, with 80.7% COVID-19 ICU beds occupancy in public hospitals and about 200 deaths per 100,000 inhabitants (**Fig. 1c, e and Supplementary figure 2b**). In addition, although the incidence of total COVID-19 cases has been homogeneously distributed among the health districts, we observed that the mortality rate was higher during April-May 2020 in the S district (**Fig. 1e**, highlighted in red), a region that has a high rate of social vulnerability (**Supplementary figure 2c**). Given the pandemic scenario, the city began the first SP plan phase 1, which required heightened stringency levels, and lasted 22 days. This set of measures led to a decrease in the Rt to around 1, and the mortality rate and incidence in July and/or August 2020 (**Fig. 1c-e**), indicating the effectivity of the SP plan to mitigate virus transmission during the period. However, it changed when the variants of concern (VOCs) Alpha and Gamma were first reported in Campinas city in January of 2021, a month after the first reported cases in Brazil (**Fig. 1a**) [10,39].

Although Campinas adhered to another SP phase 1, reflecting an increase in the stringency index during this phase (**Fig. 1b),** the social isolation index barely changed, suggesting lower adherence of the population to these measures imposed by the government. During March 2021, Campinas city went through a new phase of the pandemic, when there was another peak of positive cases in March 2021, with incidence of 1323.2, and 75.2% higher than the first peak in 2020. Moreover, this period was remarked by a high mortality rate in the city, around 300 per 100.000 inhabitants, lethality of 2% and COVID-19 public ICU beds occupancy at 85% (**Fig. 1d - e; Supplementary figure 2b**). Again, regions with high social vulnerability seemed to be more affected (S and SW) (**Fig. 1e**, highlighted in red).

From June to December 2021, we observed a 77.7% decrease in COVID-19 incidence, and the city began a phase of total commerce reopening, which was close to normality (**Supplementary figure 1**). VOCs Delta and Omicron were first detected in Campinas in July and December 2021 respectively. We observed that the incidence of SARS-CoV-2 rose 14.3 folds from December 2021 to January 2022, and the mortality rate increased approximately 17.8 folds from December 2021 to January 2022, probably due to the new VOC. However, this was 74.7% lower than the number of deaths observed in June 2020, and 86.6% lower than the number of deaths observed in March 2021.

Thus, this data suggests that the SP plan and other NPIs, together with population adherence, were more effective to restrict SARS-CoV-2 dissemination before VOCs emergency in 2020. Moreover, it is indicative that social vulnerability may have contributed to the mortality rate in the South and Southwest regions of Campinas.

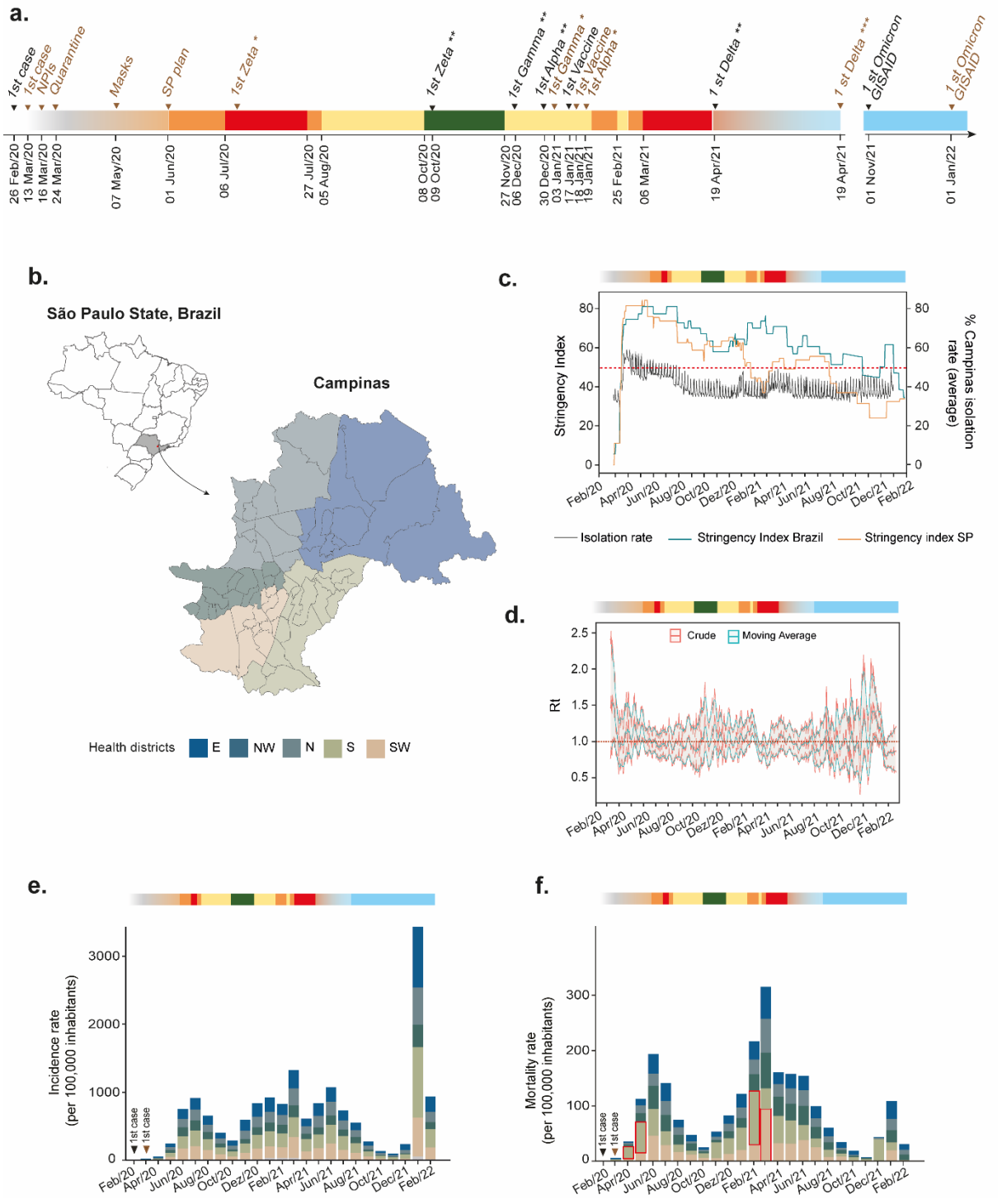


Fig. 1 Epidemiology of COVID-19 pandemic in Campinas city. a. Timeline of events related to the evolution of the pandemic in Campinas, associated to the SP plan phases. Colors show the different phases through time during the pandemic in the city: phase 1 is red, phase 2 is orange, phase 3 is yellow, phase 4 is green and the transition to "normal controlled" is shown in gradual blue. Black pointers and text indicate national events (Brazil), while brown pointers and text indicate events occurring in Campinas. The dates of variants first cases displayed are collection dates from the literature or from GISAID, as described in the figure (accessed on April 25, 2023). *NPIs = non-pharmaceutical interventions. **b.** Geopolitical map of Brazil highlighting the SP state and Campinas city, showing the division by health districts. E (East), N (North), NW (Northwest), S (South), SW (South-west). **c.** São Paulo state and Brazilian stringency Indexes by Oxford Coronavirus Government Response Tracker (OxCGRT) project (accessed on May 21, 2023), and Campinas average isolation rate from Intelligent Monitoring System of São Paulo (SIMI-SP) (accessed on April 28, 2023). A red

line is representing 50% of average isolation rate. **d.** COVID-19 Reproduction number at time *t* (Rt) for a moving average (7 days) of cases and total number of cases (crude), 95% confidence intervals are shown. **f.** Incidence of COVID-19 cases by health district. **e.** Mortality rate by health district, showing S and SW highlights in red.

São Paulo plan and NPIs had limited impact on the dissemination of SARS-CoV-2 VOCs and the pandemic advancement

To understand the dynamics of SARS-CoV-2 dissemination and the impact of several SARS-CoV-2 lineages and VOCs during the pandemic in Campinas city, we performed a high-resolution epidemiological study from April 2020 to February 2022. For this, a total of 890 complete SARS-CoV-2 genomes (>70% coverage) from Campinas city were used, being 785 sequenced by our group (717 new, only described here) and 105 genomes sequenced by other groups, available on GISAID. The samples included in this study were mapped by patients' postal codes (**Fig. 2a**). Despite the lack of an ideal sequence number by epidemiological week, we were able to access samples from all the health districts of Campinas, from April 2020 to February 2022, except December 2021 when the cases at the University community decreased, and samples had high CT values (>30) (**Fig. 2b**).

We identified four distinct periods of the pandemic in Campinas according to frequency of SARS-CoV-2 lineages (**Fig. 2**). From April to December 2020, we detected non-VOC lineages of SARS-CoV-2 in the city, including B.1.1.28 (67.0%, 250 of 373 genomes), B.1.1.33 (17.9%, 67 of 373 genomes) and Zeta linages (9.1%, 34 out of 373 genomes) up December 2020 (**Fig 2**, **Supplementary figure 3a**). The second period, from January until August 2021, was characterized by the circulation of the Gamma variant of SARS-CoV-2, which was classified as a VOC by the WHO on 11 January 2021[40]. After the first detection on 3 January (EPI_ISL_2003113) in Campinas, this VOC was simultaneously detected in all health districts of Campinas (**Fig. 2b and c and Supplementary figure 3**). The P.1 lineage was the predominant, representing 51.6% of the sequenced samples in the period (174 out of 337 genomes). Other sub lineages of Gamma were also found, such as P.1.7 (n=10), P.1.10 (n=1), P.1.11 (n=4), P.1.12 (n=1), and P.1.14 (n=65) (**Supplementary figure 3**). We identified some cases of Alpha variant of SARS-CoV-2 in Campinas during this period (n=28), including two outbreaks in the East health district previously described [40,41] (**Fig. 2b, Supplementary figure 3**). Finally, the last two periods

included in our study (from September to November 2021, and December 2021 to February 2022) were characterized by Delta and Omicron circulation respectively. The Delta was first detected in July 2021, and predominantly detected from September until November 2021 (**Fig. 2c**). A total of 12 Delta sub-lineages were identified, including AY.99.2. (n=30), AY.100 (n=2), AY.101 (n=2), AY.116 (n=1), AY.122 (n=1), AY.34.1.1 (n=3), AY.43 (n=1), AY.43.1 (n=2), AY.43.7 (n=1), AY.44 (n=1), AY.46.3 (n=1) and AY.99.1 (n=1) (**Supplementary figure 3**). All the genomes sequenced from December 2021 and February 2022 were classified as Omicron, including B.1.1.529 (n=4), and sub-lineages BA.1 (n=73), BA.1.1 (n=35), BA.1.1.18 (n=1), BA.1.14 (n=9), BA.1.14.1 (n=8), BA.1.14.2 (n=7), BA.1.15 (n=12), BA.1.17.2 (n=3) and BA.1.18 (n=1) (**Fig. 2a, Supplementary figure 3a**). In summary, the results illustrate that different SARS-CoV-2 lineages (mainly VOCs, Gamma, Delta and Omicron) were disseminated in Campinas, during the SP plan phases.

Once the Gamma period showed a significant impact on the health systems of this city, we ran a phylogenetic using a proportional dataset which included genomes from all Brazilian regions as described elsewhere[33]. In concordance with epidemiological data, the phylogenetic analysis suggests that probably that there were multiple introductions of this VOC in the different regions of the city, especially from other locations of SP state, and from North and Northeast regions of Brazil (**Supplementary figure 4**). However, further specific investigations are necessary. Our results suggest that despite the implementation of Phase 2 and 1 stricter rules afterwards, VOC Gamma spread throughout all health districts contributing to the overloading of the healthcare systems.

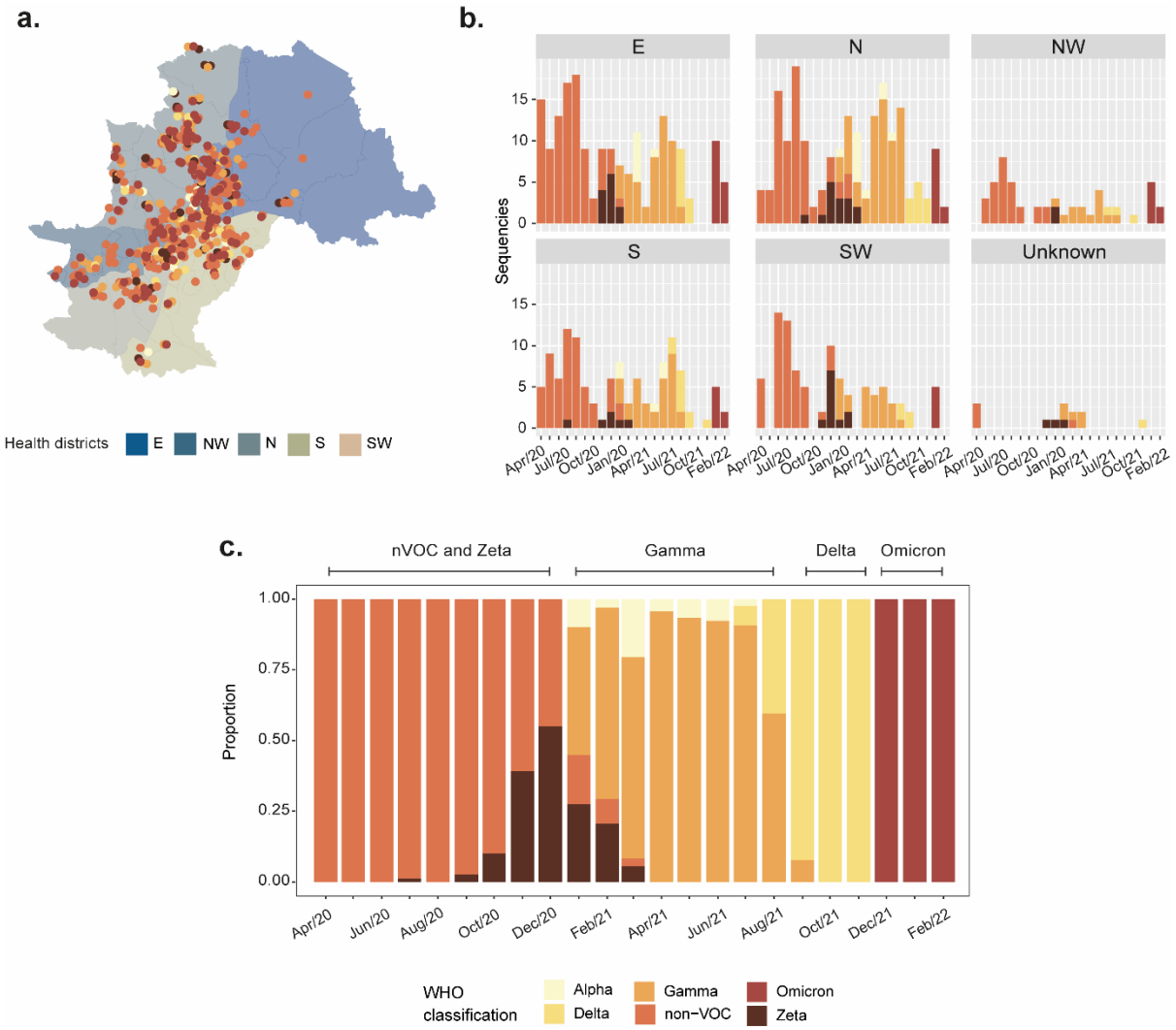


Fig 2. Distribution of sequenced SARS-CoV-2 variants in Campinas over time. a. Geopolitical map of Brazil highlighting the SP state and Campinas city. The map of the city is zoomed, and the geographical distribution of 785 genomes sequenced by this group is shown. Postal code data was used to generate a latitude and longitude dataset, which was used to map the samples in RStudio. Sample's locations are represented by the points in the map, colored by VOC (WHO classification). Not all the samples had postal code data available (n=15). **b.** Total genomes sequenced by this group and the associated health district (n=770). We did not sequence any sample from December 2021. **c.** Proportional stacked barplot showing the distribution of WHO VOCs in Campinas over time, from April 2020 to February 2022, including more 105 genomes from GISAID EPI_SET_240402nm (total = 890).

The importance of the vaccination campaign to reduce pandemic severity

To evaluate the impact of SP plan, NPIs and vaccination for the clinical consequences of different SARS-CoV-2 VOCs across the pandemic in Campinas city, we analyzed the proportion of symptoms, the mean age, and the vaccination coverage from 2020 to 2022. Despite all efforts to reduce the spread of SARS-CoV-2, we observed two peaks of severe illness and death before mass vaccination, one in

June-July 2020, during the circulation of non-VOC lineages and other in March 2021, during the circulation of Gamma, especially in S and SW regions (**Fig. 3a**). We found that the pattern of symptoms was similar during the circulation of non-VOC, Gamma, and Delta lineages in Campinas city (**Fig. 3b**). However, we noticed that other symptoms (headache, nausea, anosmia, lack of appetite and upper air tract infection symptoms) and low oxygen saturation were more frequently reported during the period of non-VOC and Gamma circulation, respectively. The mean age of hospitalized patients was significantly lower during the period of Gamma and Delta circulation when compared with the periods of non-VOC and Omicron circulation ($p < 0.001$), in both male and female patients (**Supplementary figure 5**).

In March 2021, only 3% of the population were fully vaccinated (first and second doses, or single dose vaccine), corresponding mainly to the priority groups of the healthcare workers (n=29,856) and the elderly (n=103,134) [42]. The vaccination coverage of the population in Campinas that have received 2 doses or single dose vaccine was about 80% in February 2022, varying between the health districts (**Fig 3c and d**). We found significant negative correlations ($p < 0.05$) between coverage of fully vaccinated populations and severe or fatal cases from January 2021 until February 2022 **(Fig 3e and Supplementary figure 6)**. About 17.5 thousand COVID-19 positive patients were hospitalized in Campinas during the Gamma period determined in this study, and about 3.7 thousand deaths were reported in Campinas. To reduce virus dissemination, Campinas went on alert, starting a second phase 1 of the SP plan. However, our data suggests low population adherence meant that these strict rules had little impact on containing the spread of viruses in the city, as demonstrated in Figure 1c.

Collectively, this data exemplifies the impact of the Gamma period on Campinas before the vaccination campaign progressed, with a higher mortality rate and severe cases compared to the other periods investigated. Moreover, as the vaccination of Campinas citizens advanced, disease severity decreased, finally allowing a safe reopening of the commerce with controlled measures.

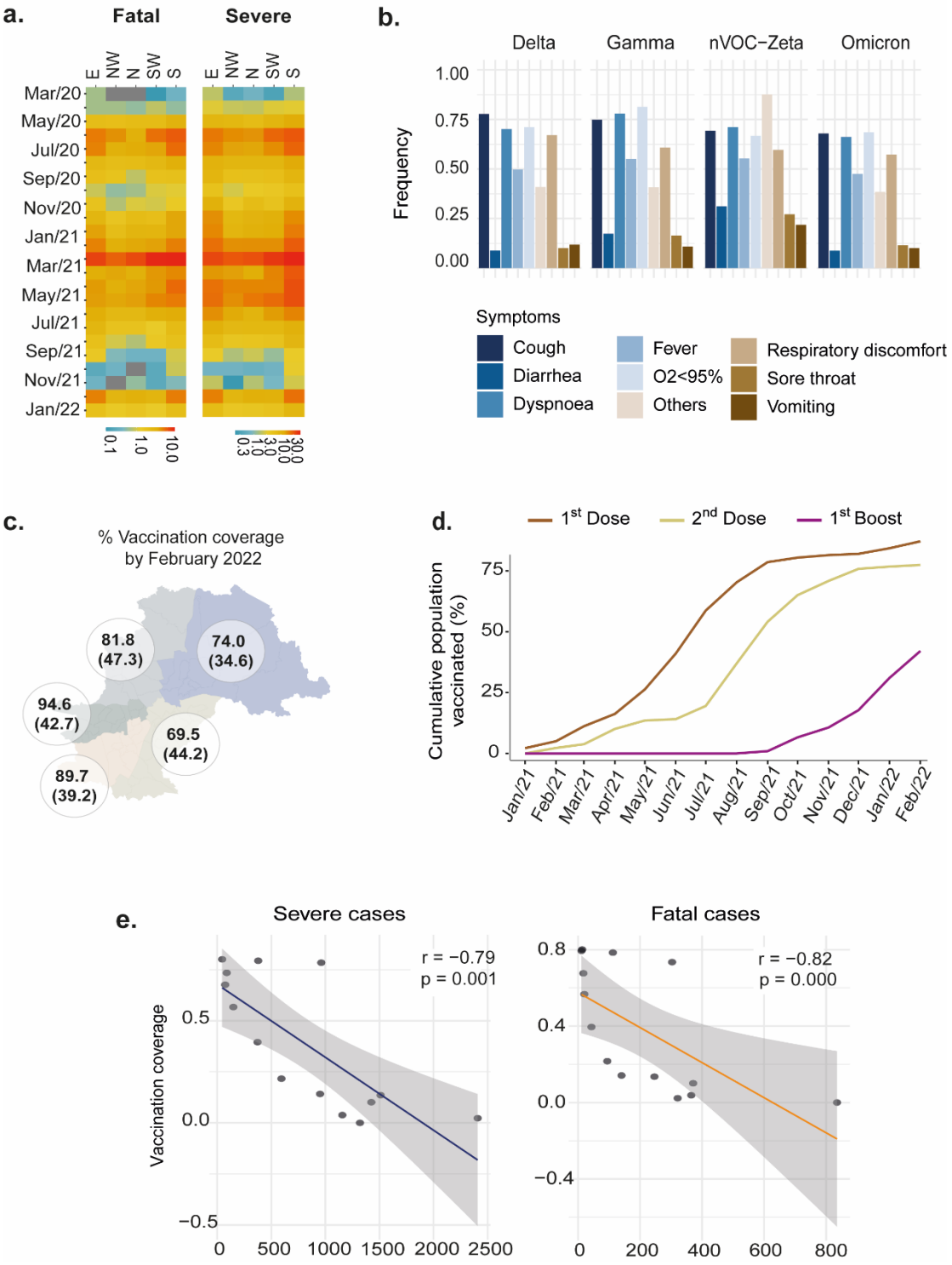


Fig 3. Vaccination campaign and distribution of COVID-19 symptoms in hospitalized SARI patients in Campinas. a. Heatmap of the temporal distribution of severe cases and fatal cases of SARI patients by health district**. b.** Frequency of the symptoms presented by hospitalized patients by period. *Other symptoms represent common mild respiratory symptoms, reported in OpenDataSUS. **c.** Percentage of 2 doses, or single dose, vaccination coverage by health district until February 2022. The percentage of the population that have received the first boost is represented in parentheses. **d.** Timeline of the cumulative percentage of the population vaccinated that received the first dose (or single dose), second dose and first boost. **e.** Correlation between vaccination coverage (2 doses or single dose) and severe (dark blue) or fatal (orange) cases. Spearman correlation coefficients (r) and

the *p*-values are shown. For the correlations we considered the number of cases 1 month forward, and for fatal cases, 2 months forward [43].

Discussion

In this study we investigated a metropolitan and highly connected city from Brazil, to track virus dissemination and genetic diversity, together with the effects of government preventive measures. SP plan lasted for 2 years of COVID-19 pandemic in the attempt to circumvent social, clinical, and economic impact of the pandemic. Yet it relied on the vaccination campaign to mitigate severe cases and deaths, mainly after the former VOC Gamma introduction and dissemination.

Studies evaluating the NPIs effectiveness have shown that social distancing, quarantine, curfews and the use of masks were able to significantly reduce Rt values, especially when they were implemented in combination, as it was thought for the SP Plan [45]. However, the effect of the restrictions overtime was a concern as they may present several adverse effects on the population's daily-life and behavior [46]. SP Plan in Campinas was marked by fluctuation of control measures, and different pandemic phase classifications. Despite the observed decrease in social isolation in June 2020, possibly associated with the mandatory use of masks [47], our results suggest that pandemic evolution was congruent to population adherence to NPIs in 2020, as we observed decrease in the number of cases and transmission, after increase of strictness in SP plan rules. Also, immune responses generated by natural infections, especially after the first phase 1 of SP plan, when we observed a peak of severe cases, may have contributed to decrease positive cases from August to November 2020 [48], although some reinfection cases by non-VOC lineages have been reported [49].

The former VOC Gamma has shown to be more transmissible and to produce higher viremia than previous B.1.1.28 lineage, in addition to the capacity of evading immune response generated by natural infection [10]. Gamma was first reported in Campinas at the beginning of 2021, and this underscores a noteworthy challenge faced during the pandemic. Despite efforts to implement interventions and travel advisories, it became evident that infected individuals continued to travel both within and into the city. This dynamic emphasizes the complex interplay between

mobility, regional interactions, and the virus's ability to traverse geographic boundaries [13,50,51]. In addition, the emergency of this VOC, together with the waning of social isolation and social inequities, were followed by a peak of deaths in March 2021, when dyspnea and low oxygen saturation were more frequently reported in severe patients compared with patients from 2020. Some studies from Brazilian cities have shown a relatively higher risk of disease severity during the Gamma prevalence, and hospitalization of younger people increased when compared to previous lineages [52–54]. Disparities in healthcare resources across the Brazilian regions also impacted in-hospital mortality rates, especially in locations with pre-pandemic social-economic inequities and high healthcare pressure [55]. In this work, we observed that socially vulnerable regions, such as the S health district, had more fatal cases during the two emergency phases (June 2020 and March-April 2021).

Brazil began its vaccination campaign on 17 January 2021 through the Brazilian Unified Health System (SUS). The priority groups vaccinated included the elderly, healthcare workers, people with comorbidities, pregnant women, and indigenous people. In October 2021, about 65% of the population in Campinas city were fully vaccinated. The stringency index dropped to 30 and the Rt values were around 1 by the end of 2021, leading to the end of the SP Plan and other interventions in the city. These measures and the emergence of a highly transmissible lineage of SARS-CoV-2[38], the Omicron variant, culminated in a new peak of COVID-19 cases in January 2022. However, this peak was not followed by a proportional increase in the number of deaths or severe disease, probably as a consequence of protection induced by vaccination and/or previous natural infections.

Our study has some limitations. The samples received for genome sequencing did not cover all neighborhoods and districts proportionally to the number of COVID-19 cases. Also, we had access only to samples from the University community or specific cases via Campinas Department of Health Surveillance. We could not perform real time genomic surveillance all the time, thus Delta and Omicron genomes were accessed months later. In the meantime, other Brazilian institutes were still doing surveillance and including genomes from Campinas on GISAID.

Integrating genomics with epidemiological surveillance is crucial for tracking disease progression and informing government decision-making [56,57]. Our study

reinforces the importance of public policies on social isolation and other NPIs to restrict virus dissemination in a pandemic situation when the population is engaged in the process. Furthermore, it shows the importance of vaccination to mitigate the spread and clinical impact of a virus like SARS-CoV-2, particularly in a moment with low population adherence to NPIs.

Our findings underscore the need for continued and expanded genomic surveillance efforts to capture real-time data, informing not only local response but contributing to a broader understanding of disease evolution and spread, thus emphasizing the importance of studies in this area.

Data availability

Supplementary information

References

1. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. https://covid19.who.int/.
2. Zhou, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* **579**, 270–273 (2020).
3. Huang, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet* **395**, 497–506 (2020).
4. Xu, Z. *et al.* Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Respiratory Medicine* **8**, 420–422 (2020).
5. O'Mahoney, L. L. *et al.* The prevalence and long-term health effects of Long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine* **55**, 101762 (2023).
6. Bouvet, M. *et al.* RNA 3'-end mismatch excision by the severe acute respiratory syndrome coronavirus nonstructural protein nsp10/nsp14 exoribonuclease complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **109**, 9372–9377 (2012).
7. O'Toole, Á. *et al.* Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evol* **7**, veab064 (2021).
8. SARS-CoV-2 epidemic in Brazil: how the displacement of variants has driven distinct epidemic waves. *Virus Res.* **315**, 198785 (2022).
9. Covid-19 Casos e Óbitos. https://infoms.saude.gov.br/extensions/covid-19_html/covid-19_html.html.
10. Faria, N. R. *et al.* Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science* **372**, 815–821 (2021).
11. Zeiser, F. A. *et al.* First and second COVID-19 waves in Brazil: A cross-sectional study of patients' characteristics related to hospitalization and in-hospital mortality. *Lancet Reg Health Am* **6**, 100107 (2022).
12. Voloch, C. M. *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. *J. Virol.* **95**, (2021).
13. Candido, D. S. *et al.* Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science* **369**, 1255–1260 (2020).
14. Tsueng, G. *et al.* Outbreak.info Research Library: a standardized, searchable

platform to discover and explore COVID-19 resources. *Nat. Methods* **20**, 536–540 (2023).
15. Gangavarapu, K. *et al.* Outbreak.info genomic reports: scalable and dynamic surveillance of SARS-CoV-2 variants and mutations. *Nat. Methods* **20**, 512–522 (2023).
16. Dong, E., Du, H. & Gardner, L. An interactive web-based dashboard to track COVID-19 in real time. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 533–534 (2020).
17. Campinas, Florianópolis and Vitória are the New Brazilian Metropolises. *Agência de Notícias - IBGE* https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/en/agencia-news/2184-news-agency/news/28066-campinas-florianopolis-e-vitoria-sao-as-novas-metropoles-brasileiras-2 (2020).
18. Campinas (SP). https://www.ibge.gov.br/cidades-e-estados/sp/campinas.html.
19. Gori Maia, A., Marteleto, L., Rodrigues, C. G. & Sereno, L. G. The short-term impacts of coronavirus quarantine in São Paulo: The health-economy trade-offs. *PLoS One* **16**, e0245011 (2021).
20. de Almeida, G. B. *et al.* Two hundred days of COVID-19 in São Paulo State, Brazil. *Epidemiol. Infect.* **148**, e295 (2020).
21. Prefeitura Municipal de Campinas. https://portal.campinas.sp.gov.br/sites/vacina/elogios-reclamacoes-e-sugestoes.
22. Cori, A., Ferguson, N. M., Fraser, C. & Cauchemez, S. A new framework and software to estimate time-varying reproduction numbers during epidemics. *Am. J. Epidemiol.* **178**, 1505–1512 (2013).
23. de Souza Santos, A. A. *et al.* Dataset on SARS-CoV-2 non-pharmaceutical interventions in Brazilian municipalities. *Sci Data* **8**, 73 (2021).
24. Hale, T. *et al.* A global panel database of pandemic policies (Oxford COVID-19 Government Response Tracker). *Nat Hum Behav* **5**, 529–538 (2021).
25. GitHub - ipeaGIT/geobr: Easy access to official spatial data sets of Brazil in R and Python. *GitHub* https://github.com/ipeaGIT/geobr.
26. Pebesma, E. & Bivand, R. *Spatial Data Science: With Applications in R*. (Chapman and Hall/CRC, 2023).
27. Pebesma, E. Simple features for R: Standardized support for spatial vector data. *R J.* **10**, 439 (2018).
28. Corman, V. M. *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* **25**, (2020).
29. Li, H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. *Bioinformatics* **34**, 3094–3100 (2018).
30. Li, H. *et al.* The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* **25**, 2078–2079 (2009).
31. Hu, K., Huang, N., Zou, Y., Liao, X. & Wang, J. MultiNanopolish: refined grouping method for reducing redundant calculations in Nanopolish. *Bioinformatics* **37**, 2757–2760 (2021).
32. Truong Nguyen, P. T. *et al.* HAVoC, a bioinformatic pipeline for reference-based consensus assembly and lineage assignment for SARS-CoV-2 sequences. *BMC Bioinformatics* **22**, 373 (2021).
33. Fonseca, P. L. C. *et al.* Tracking the turnover of SARS-CoV-2 VOCs Gamma to Delta in a Brazilian state (Minas Gerais) with a high-vaccination status. *Virus Evol* **8**, veac064 (2022).
34. Minh, B. Q. *et al.* IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Mol. Biol. Evol.* **37**, 1530–1534 (2020).

35. Kalyaanamoorthy, S., Minh, B. Q., Wong, T. K. F., von Haeseler, A. & Jermiin, L. S. ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods* **14**, 587–589 (2017).
36. Rambaut, A., Lam, T. T., Max Carvalho, L. & Pybus, O. G. Exploring the temporal structure of heterochronous sequences using TempEst (formerly Path-O-Gen). *Virus Evol* **2**, vew007 (2016).
37. Worobey, M. Phylogenetic evidence against evolutionary stasis and natural abiotic reservoirs of influenza A virus. *J. Virol.* **82**, 3769–3774 (2008).
38. Lamarca, A. P. *et al.* The Omicron Lineages BA.1 and BA.2 (SARS-CoV-2) Have Repeatedly Entered Brazil through a Single Dispersal Hub. *Viruses* **15**, (2023).
39. Claro, I. M. *et al.* Local Transmission of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7, Brazil, December 2020. *Emerg. Infect. Dis.* **27**, 970–972 (2021).
40. Updated working definitions and primary actions for SARSCoV2 variants. https://www.who.int/publications/m/item/historical-working-definitions-and-primary-actions-for-sars-cov-2-variants.
41. de Souza, W. M. *et al.* Clusters of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Infection after Vaccination with Adenovirus-Vectored and Inactivated Vaccines. *Viruses* **13**, (2021).
42. Vacinometro COVID-19. https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19.html#.
43. Baud, D. *et al.* Real estimates of mortality following COVID-19 infection. *Lancet Infect. Dis.* **20**, 773 (2020).
44. Koelle, K., Martin, M. A., Antia, R., Lopman, B. & Dean, N. E. The changing epidemiology of SARS-CoV-2. *Science* **375**, 1116–1121 (2022).
45. Bo, Y. *et al.* Effectiveness of non-pharmaceutical interventions on COVID-19 transmission in 190 countries from 23 January to 13 April 2020. *Int. J. Infect. Dis.* **102**, 247–253 (2021).
46. Haug, N. *et al.* Ranking the effectiveness of worldwide COVID-19 government interventions. *Nat Hum Behav* **4**, 1303–1312 (2020).
47. Fracalossi de Moraes, R., Russell, L. B., Santos da Silva, L. L. & Toscano, C. M. Effects of non-pharmaceutical interventions on social distancing during the COVID-19 pandemic: Evidence from the 27 Brazilian states. *PLoS One* **17**, e0265346 (2022).
48. Townsend, J. P., Hassler, H. B., Sah, P., Galvani, A. P. & Dornburg, A. The durability of natural infection and vaccine-induced immunity against future infection by SARS-CoV-2. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **119**, e2204336119 (2022).
49. Amorim, M. R. *et al.* Respiratory Viral Shedding in Healthcare Workers Reinfected with SARS-CoV-2, Brazil, 2020. *Emerg. Infect. Dis.* **27**, 1737–1740 (2021).
50. Candido, D. D. S. *et al.* Routes for COVID-19 importation in Brazil. *J. Travel Med.* **27**, (2020).
51. Li, J., Lai, S., Gao, G. F. & Shi, W. The emergence, genomic diversity and global spread of SARS-CoV-2. *Nature* **600**, 408–418 (2021).
52. Oliveira, E. A. *et al.* Comparison of the First and Second Waves of the Coronavirus Disease 2019 Pandemic in Children and Adolescents in a Middle-Income Country: Clinical Impact Associated with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Gamma Lineage. *J. Pediatr.* **244**, 178–185.e3 (2022).

53. Banho, C. A. *et al.* Impact of SARS-CoV-2 Gamma lineage introduction and COVID-19 vaccination on the epidemiological landscape of a Brazilian city. *Commun. Med.* **2**, 41 (2022).
54. Hojo-Souza, N. S., Freitas, V. L. de S., Guidoni, D. L. & de Souza, F. H. Clinical symptom profile of hospitalized COVID-19 Brazilian patients according to SARS-CoV-2 variants. *Epidemiol. Health* e2023079 (2023).
55. Brizzi, A. *et al.* Spatial and temporal fluctuations in COVID-19 fatality rates in Brazilian hospitals. *Nat. Med.* **28**, 1476–1485 (2022).
56. Stephens, N. *et al.* COVID-19: Integrating genomic and epidemiological data to inform public health interventions and policy in Tasmania, Australia. *Western Pac Surveill Response J* **12**, 1–9 (2021).
57. Stoddard, G. *et al.* Using genomic epidemiology of SARS-CoV-2 to support contact tracing and public health surveillance in rural Humboldt County, California. *BMC Public Health* **22**, 456 (2022).

Acknowledgements: The authors thank the UNICAMP Task Force against COVID-19, the Brazilian Ministry of Science, Technology, and Innovation (MCTI), and all members of the Corona-ômica network for facilitating this study. We also thank the voluntary contributions of all patients included in this study. Finally, we would like to thank all funding agencies that were essential to this study development.

Author contributions:

Funding: This study was supported by grants from the São Paulo Research Foundation (FAPESP, grant Nos. 2016/00194-8 and 2020/04558-0), the Fundo de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão of UNICAMP (FAEPEX-UNICAMP, grant No. 2266/20), the Medical Research Council and FAPESP-Brazil-UK Center for (Arbo) virus Discovery, Diagnosis, Genomics, and Epidemiology partnership award (MR/S0195/1 and FAPESP 2018/14389-0), MCTI, through the Rede Corona-ômica Brazil/MCTI (funded by the Financier of Studies and Projects [FINEP] grant No. 01.20.0003.00), Rede Vírus/MCTI (FINEP grant No. 01.20.0029.000462/20) and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (grant Nos. 404096/2020-4, 401977/2020 and 382206/2020-7). M.R.A. and P.P.B. were supported by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (grants Nos. 88887.356527/2019-00 and 88887.513267/2020-00) fellowships. J.L.P.-M. is supported by CNPq grant No. 305628/2020-8. WMS was supported by a Global Virus Network fellowship, Burroughs Wellcome Fund (#1022448), and Wellcome Trust–Digital Technology Development award (Climate Sensitive Infectious Disease Modelling; 226075/Z/22/Z).

Competing interests: The authors declare that they have no relevant conflict of interest.

Additional information: The supporting information can be downloaded at https://www. xxxxxxxx.

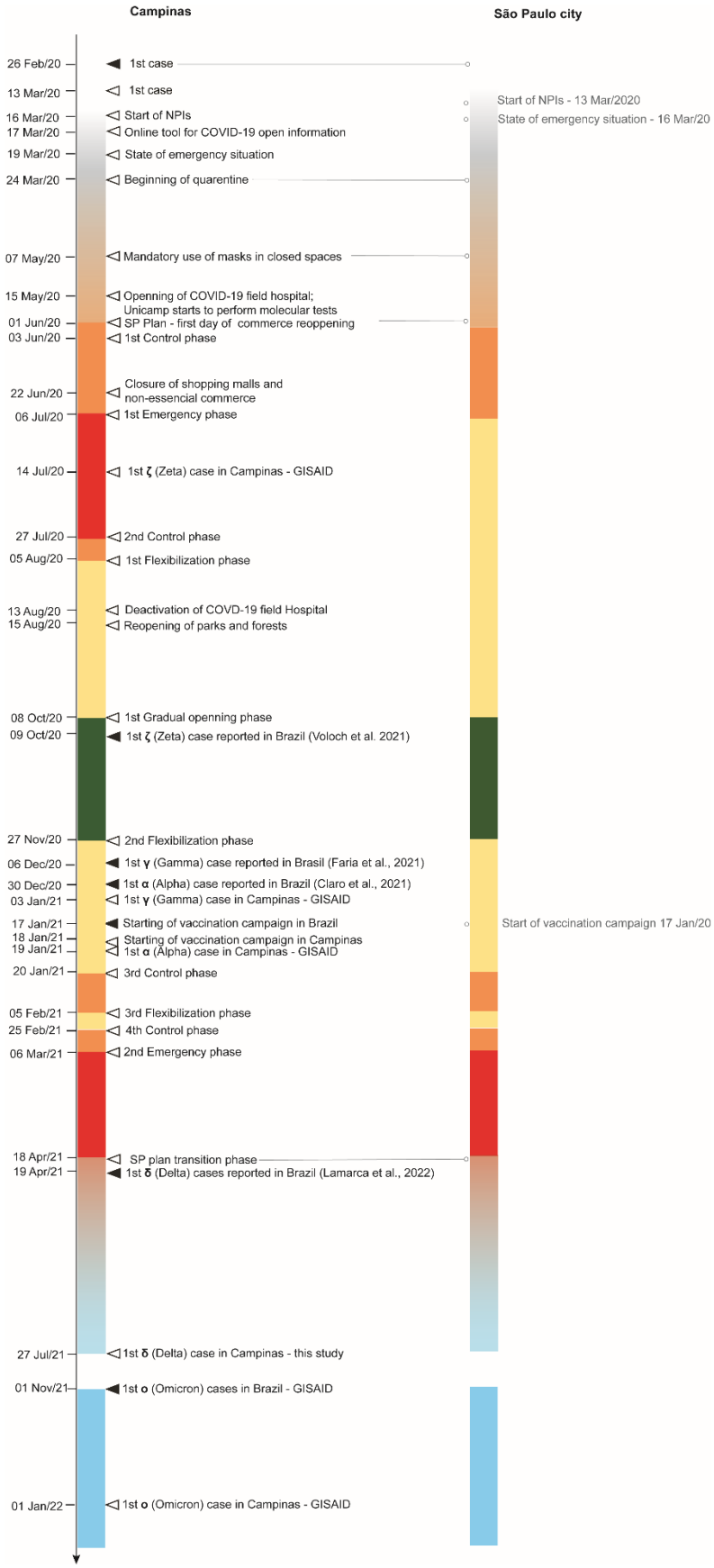
Supplementary figure 1: Timeline of events related to the evolution of the pandemic in Campinas, associated to the SP plan phases.

Supplementary figure 2: SP plan phases main description.

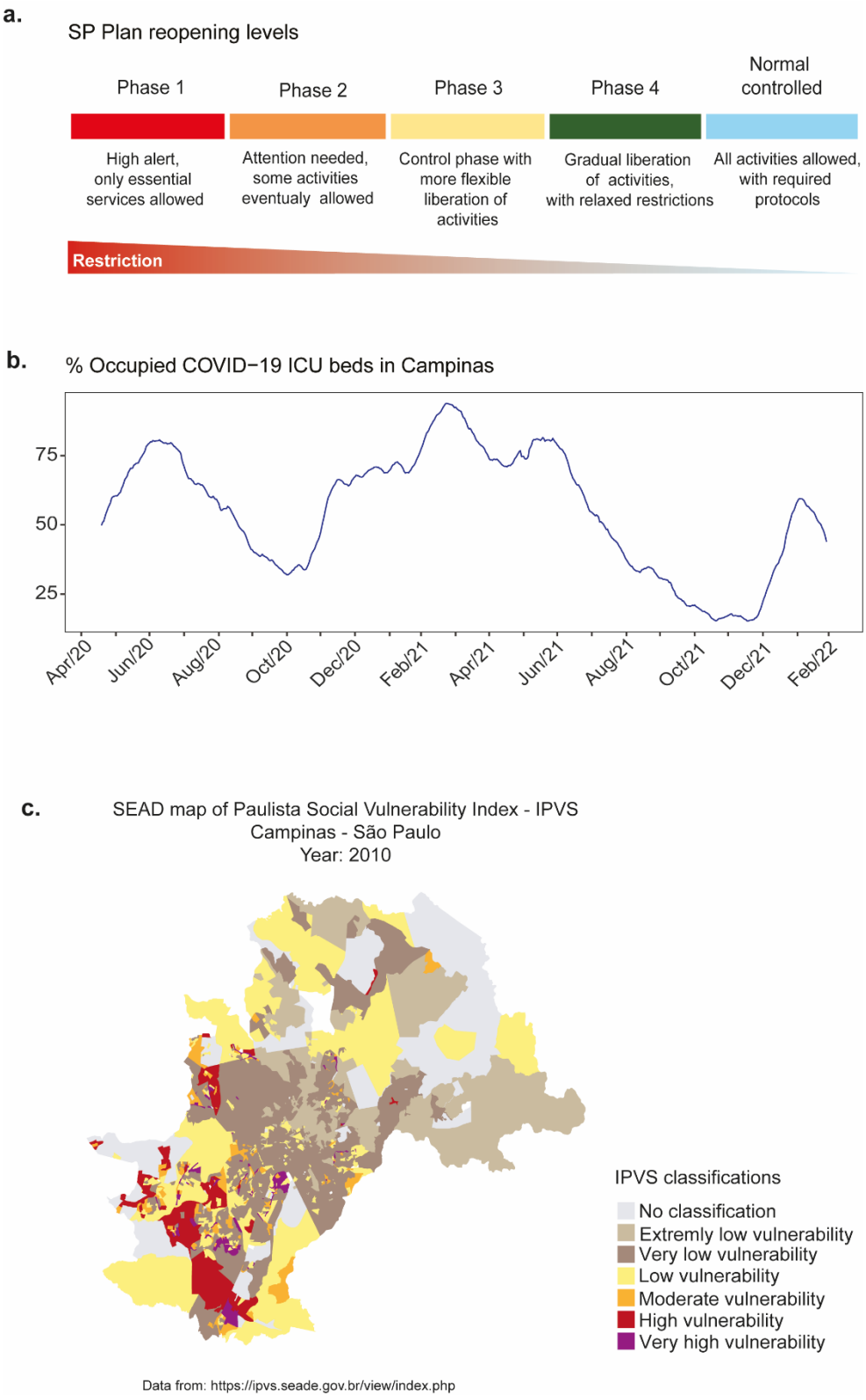
Supplementary figure 3: SARS-COV-2 lineages distribution in Campinas city.

Supplementary figure 4: Age distribution of hospitalized patients by SARS-CoV-2 VOCs in Campinas City.

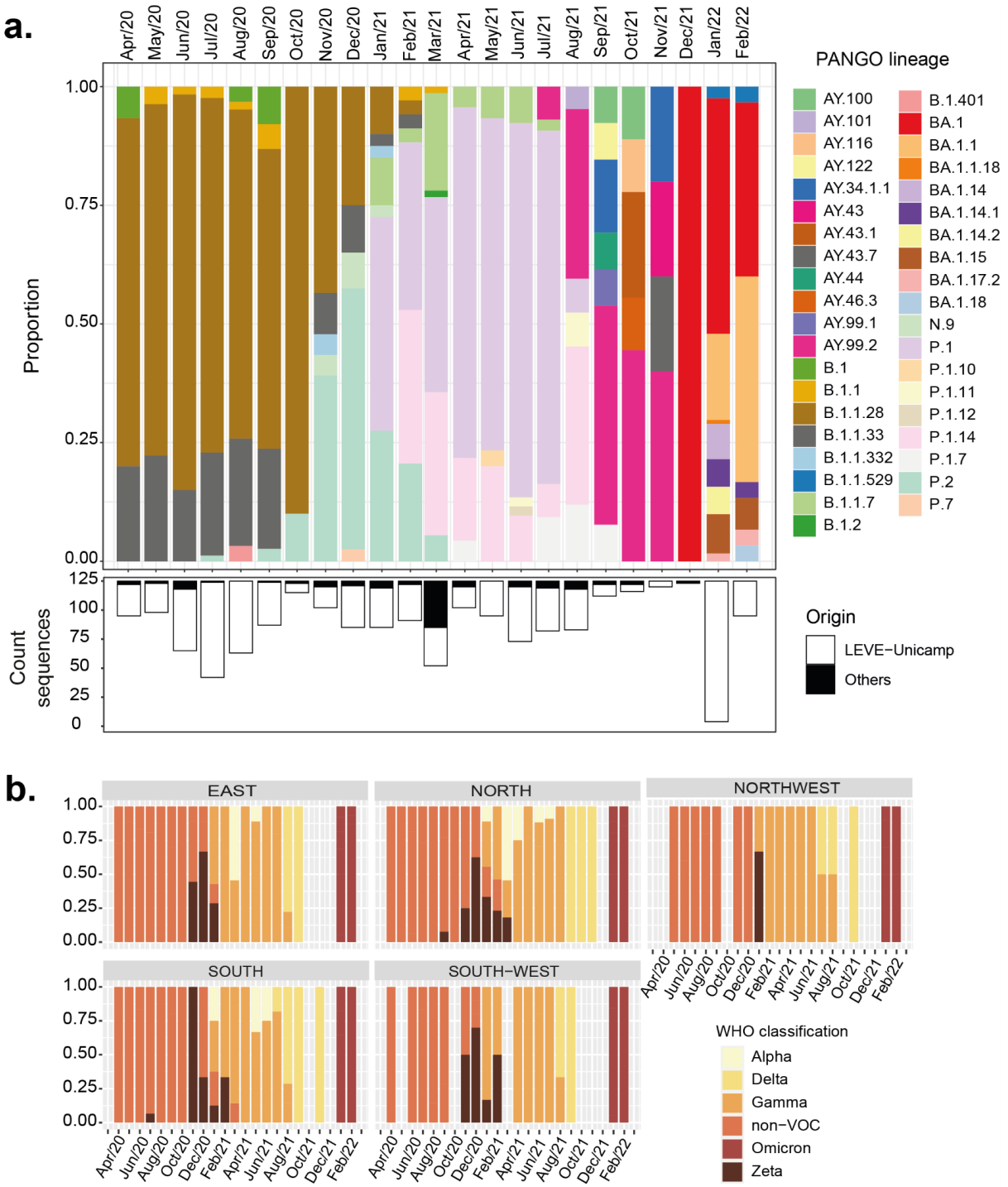
Material suplementar – Artigo 1



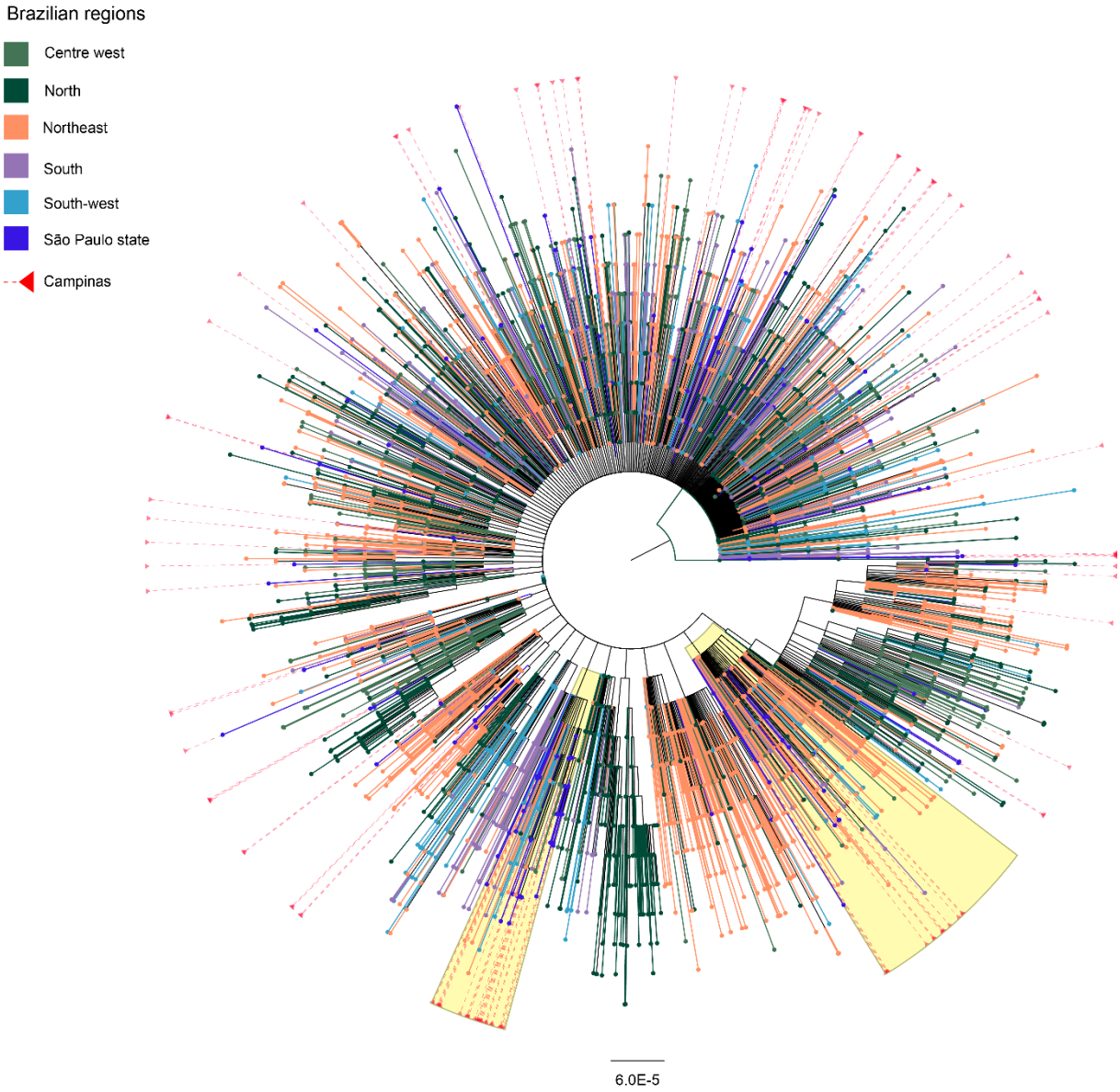
Supplementary figure 1. Timeline of events related to the evolution of the pandemic in Campinas, associated to the SP plan phases. Colours shows the different phases though time during the pandemic in the city: “Control phase” is orange; “Flexibilization phase” is yellow; “Gradual opening” is green; “Emergency phase” is red; and blue represents “Transition phase”. Black pointers indicate national events (Brazil), while white pointers indicate events occurring in Campinas. The dates of variants first cases displayed are collection dates from the literature or from GISAID (accessed on April 25, 2023). *NPIs = non-pharmaceutical interventions, which included suspension of huge public gathering events, recommendations to reduce public gathering on commerce and public transportation, closure of bars, cinemas and other cultural facilities, closure of public schools, public cultural facilities, and public sports squares.



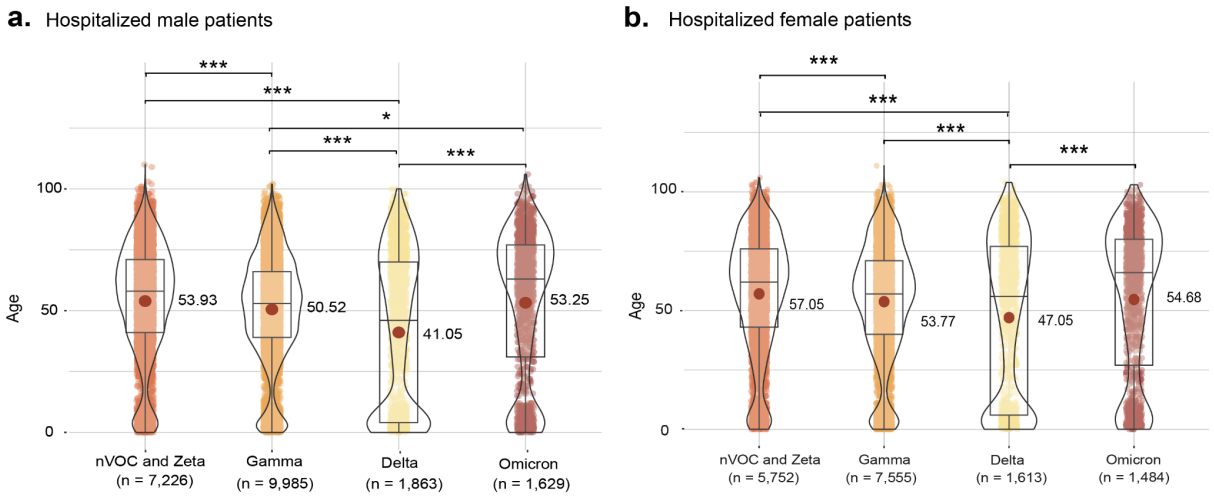
Supplementary figure 2. a. SP plan phases main description. **b.** ICU bed occupancy in Campinas public hospitals, data collected from SIMI (*Sistema de Monitoramento Inteligente*) available in https://www.saopaulo.sp.gov.br/planosp/simi/leitos, accessed on 05 November 2023. **c.** Map of Paulista Social Vulnerability Index (IPVS) in Campinas – São Paulo. Data from Fundação Sistema Estadual de Análise de Dados- SEAD, 2010.



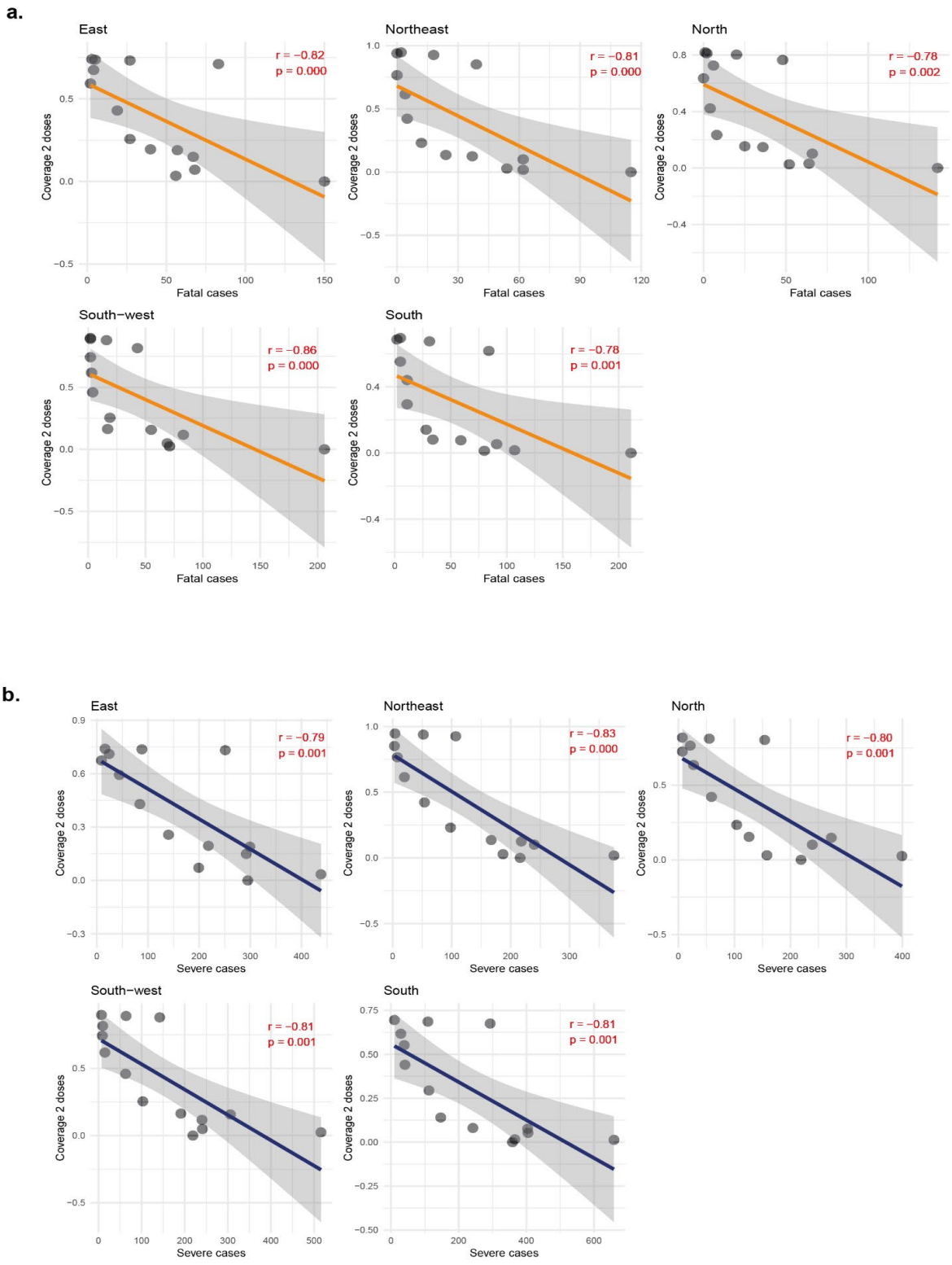
Supplementary figure 3. a. Proportional stacked barplot showing the distribution of lineages classified by Pangolin in Campinas over time, from April 2020 to February 2022, including 785 samples from this group and more 105 genomes available on GISAID (total = 890), the number of genomes over time and genomes origin is shown. **b.** Frequency distribution of the genomes sequenced by Campinas Health Districts. Only the genomes sequenced by this group and mapped on Figure 2 are shown (n=770).



Supplementary figure 4. Phylogenetic analysis of Gamma variants in Campinas in a national context (n=3,048). This study genomes (n=111), pointed in the tree with red triangles, were joined to a proportional dataset of genomes across Brazilian regions (n = 2,937). Maximum-likelihood phylogenetic reconstruction was performed with IQ-Tree v2.1.2 under GTR + F + I +G4 nucleotide substitution model, Shimoidara–Hasegawa-like approximate likelihood ratio test (SH-aLRT) and 1,000 Bootstraps. The oldest genome included in the dataset (EPI_ISL_2777384) was used to root the tree with Figtree v1.4.4. Samples with inconsistent temporal signals were identified using TempEst v1.5.3 and removed from the final tree. Two big groups are highlighted in yellow.



Supplementary figure 5. Violin and boxplots showing the mean age of hospitalized patients, male and female, by period of each variant prevalence. Data from SARI cases available online in OpenDataSUS were filtered and organized by periods. Total individuals are shown by group Statistical analysis were performed in R, using *ggstatsplot* package [18,40]. Mean differences were compared by Oneway ANOVA and Games-Howell test. *p* values adjusted by Holm test. * = $p < 0.05$ and *** = $p < 0.001$.



Supplementary figure 6. Correlation between vaccination coverage (2 doses or single dose) and severe (dark blue) or fatal (orange) cases by Campinas health district. Spearman correlation coefficients (r) and the p-values are shown. For the correlations we considered the number of cases 1 month forward, and for fatal cases, 2 months forward [40].

CAPÍTULO II: Identificação e estudo de casos de reinfecções em profissionais da saúde e na comunidade da Unicamp

No início da pandemia em Campinas e outras cidades no Brasil, os testes de diagnóstico molecular eram escassos e os realizados pela rede pública aconteciam apenas em alguns centros específicos. Com a implementação e acreditação do diagnóstico molecular da COVID-19 na Unicamp, LPC HC, houve uma ampliação da rede de diagnóstico, e a parceria da academia com a saúde pública, resultando em uma maior capacidade e agilidade na realização dos testes em Campinas, os quais também foram implementados nas redes públicas e privadas da cidade.

Esse fato permitiu com que fosse possível viabilizar a vigilância genômica e epidemiológica de SARS-CoV-2 dentro do ambiente hospitalar do HC. Desse modo, foi possível investigar possíveis casos de reinfecção por SARS-CoV-2 em profissionais da saúde em ambiente hospitalar, investigando também a presença de partículas virais viáveis nas amostras respiratórias, com o intuito de fornecer embasamento científico para a tomada de ações da vigilância epidemiológica dentro desses ambientes.

Foram obtidas amostras residuais de *swab* nasofaríngeo, as quais foram submetidas a um protocolo de isolamento viral padronizado no LEVE, e de sequenciamento utilizando a plataforma MinION. Para esse estudo, foram coletados os dados clínicos e os termos de consentimento (TCLE), após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa (CAAE: 31170720.3.0000.5404). No primeiro estudo, foram investigados quatro casos de reinfecção em profissionais da saúde da comunidade da Unicamp, e verificado a presença de partículas virais viáveis nas amostras de reinfecção. Curiosamente, esse foi o primeiro relato na literatura de casos de reinfecção por linhagens não VOC de SARS-CoV-2. Os resultados foram publicados na Revista *Emerging Infectious Diseases*, em junho de 2021 (Artigo 1).

Os eventos de reinfecções, que em 2020 foram raros na população avaliada, passaram a ser mais frequentes nos anos seguintes, principalmente com a circulação das VOCs e da Omicron no início de 2022. Foram identificados 51 casos prováveis de reinfecção, sendo que 54,9% (n=28) ocorreram em profissionais da saúde ilustrando o alto risco laboral e a importância da vacinação grupo de pessoas (Tabela 1). Deste total de casos suspeitos de reinfecção, conseguimos sequenciar o

genoma completo de SARS-CoV-2 obtidos de 19 indivíduos em ambas as infecções. Curiosamente, em todos eles, a segunda infecção foi causada pela variante Omicron de SARS-CoV-2. No geral, foi observado uma média de intervalo de 377,4 dias entre uma infecção e outra, com desvio padrão de 185,48 e intervalo de confiança (95%) de 324,65 a 430,15 dias (Tabela 1). Esses dados não foram ainda publicados. Um artigo será redigido em parceria com os profissionais do CECOM da Unicamp e DEVISA.

Os resultados apresentados neste capítulo mostraram que a realização de um maior número de testes comunitários na comunidade da Unicamp teve um papel fundamental na melhoria da vigilância epidemiológica e da caracterização da circulação desse vírus em ambiente hospitalar, apontando a necessidade da adoção de medidas de NPIs e uso de equipamentos de proteção individual (EPIs) por profissionais de saúde durante a circulação de SARS-CoV-2.

Artigo 2. Amorim, MR; de Souza, W *et. al*, 2021

References

1. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for antigen testing for SARS-CoV-2 [cited 2021 Mar 27]. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antigen-tests-guidelines.html
2. Dinnes J, Deeks JJ, Berhane S, Taylor M, Adriano A, Davenport C, et al.; Cochrane COVID-19 Diagnostic Test Accuracy Group. Rapid, point-of-care antigen and molecular-based tests for diagnosis of SARS-CoV-2 infection. Cochrane Database Syst Rev. 2021;3:CD013705.
3. Albert E, Torres I, Bueno F, Huntley D, Molla E, Fernández-Fuentes MÁ, et al. Field evaluation of a rapid antigen test (Panbio™ COVID-19 Ag Rapid Test Device) for COVID-19 diagnosis in primary healthcare centres. Clin Microbiol Infect. 2021;27:472.e7–10. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2020.11.004
4. Iglòi Z, Velzing J, van Beek J, van de Vijver D, Aron G, Ensing R, et al. Clinical evaluation of Roche SD Biosensor rapid antigen test for SARS-CoV-2 in municipal health service testing site, the Netherlands. Emerg Infect Dis. 2021 Mar 16 [Epub ahead of print]. https://doi.org/10.3201/eid2705.204688
5. Centers for Disease Control and Prevention. Collection and submission of postmortem specimens from deceased persons with confirmed or suspected COVID-19: postmortem guidance [cited 2021 Mar 27]. https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/guidance-postmortem-specimens.html
6. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. Euro Surveill. 2020;25:2001483. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.32.2001483
7. Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, et al. Multiorgan and renal tropism of SARS-CoV-2. N Engl J Med. 2020;383:590–2. https://doi.org/10.1056/NEJMc2011400
8. Jefferson T, Spencer EA, Brassey J, Heneghan C. Viral cultures for COVID-19 infectious potential assessment—a systematic review. Clin Infect Dis. 2020 Dec 20 [Epub ahead of print]. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1764
9. Loibner M, Langner C, Regitnig P, Gorkiewicz G, Zatloukal K. Biosafety requirements for autopsies of patients with COVID-19: example of a BSL-3 autopsy facility designed for highly pathogenic agents. Pathobiology. 2021;88:37–45. https://doi.org/10.1159/000513438
10. Brown LD, Cai TT, DasGupta A. Interval estimation for a binomial proportion. Stat Sci. 2001;16:101–33. https://doi.org/10.1214/ss/1009213286

Address for correspondence: Martin Zacharias, Diagnostic and Research Institute of Pathology, Medical University of Graz, Neue Stiftingtalstraße 6, 8010 Graz, Austria; email: martin.zacharias@medunigraz.at

Respiratory Viral Shedding in Healthcare Workers Reinfected with SARS-CoV-2, Brazil, 2020

Mariene R. Amorim,[1] William M. Souza,[1] Antonio C.G. Barros Jr., Daniel A. Toledo-Teixeira, Karina Bispo-dos-Santos, Camila L. Simeoni, Pierina L. Parise, Aline Vieira, Julia Forato, Ingra M. Claro, Luciana S. Mofatto, Priscila P. Barbosa, Natalia S. Brunetti, Emerson S.S. França, Gisele A. Pedroso, Barbara F.N. Carvalho, Tania R. Zaccariotto, Kamila C.S. Krywacz, André S. Vieira, Marcelo A. Mori, Alessandro S. Farias, Maria H.P. Pavan, Luís Felipe Bachur, Luís G.O. Cardoso, Fernando R. Spilki, Ester C. Sabino, Nuno R. Faria, Magnun N.N. Santos, Rodrigo Angerami, Patricia A.F. Leme, Angelica Schreiber, Maria L. Moretti, Fabiana Granja, José Luiz Proenca-Modena

Author affiliations: University of Campinas, Campinas, Brazil (M.R. Amorim, A.C.G. Barros Jr., D.A. Toledo-Teixeira, K. Bispo-dos-Santos, C.L. Simeoni, P.L. Parise, A. Vieira, J. Forato, L.S. Mofatto, P.P. Barbosa, N.S. Brunetti, E.S.S. França, G.A. Pedroso, B.F.N. Carvalho, T.R. Zaccariotto, K.C.S. Krywacz, A.S. Vieira, M.A. Mori, A.S. Farias, M.H.P. Pavan, L.F. Bachur, L.G.O. Cardoso, M.N.N. Santos, R. Angerami, P.A.F. Leme, A. Schreiber, M.L. Moretti, F. Granja, J.L. Proenca-Modena); University of São Paulo, São Paulo, Brazil (W.M. Souza, I.M. Claro, E.C. Sabino, N.R. Faria); Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil (F.R. Spilki); University of Oxford, Oxford, UK (N.R. Faria); Imperial College London, London, UK (N.R. Faria); Campinas Department of Public Health Surveillance, Campinas (R. Angerami); Federal University of Roraima, Boa Vista, Brazil (F. Granja)

DOI: https://doi.org/10.3201/eid2706.210558

We documented 4 cases of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reinfection by non–variant of concern strains among healthcare workers in Campinas, Brazil. We isolated infectious particles from nasopharyngeal secretions during both infection episodes. Improved and continued protection measures are necessary to mitigate the risk for reinfection among healthcare workers.

Coronavirus disease (COVID-19) is caused by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), which emerged in Wuhan, China,

[1]These authors contributed equally to this article.

in late 2019. As of April 8, 2021, COVID-19 has affected >132 million persons and caused >2.87 million deaths around the world (https://covid19.who.int). Whether the immune response elicited by an initial infection protects against reinfection is uncertain. The Pan American Health Organization provisionally defines reinfection as a positive SARS-CoV-2 test result ≥45 days after initial infection, given that other infections and prolonged shedding of SARS-CoV-2 or viral RNA have been ruled out (*1*). Healthcare workers (HCWs) are consistently exposed to SARS-CoV-2 and are therefore susceptible to reinfection.

We investigated 4 cases of SARS-CoV-2 reinfection among HCWs at the Hospital das Clínicas da Unicamp, a tertiary public hospital at the University of Campinas (Campinas, Brazil). This study was approved by the Research Ethical Committee of the University of Campinas (approval no. CAAE-31170720.3.0000.5404). The 4 HCWs, consisting of 3 nurses and 1 staff member, were women with an average age of 44 years (range 40–61 years) (Figure 1, panel A). For the initial infections, symptom onset ranged from April 5–May 10, 2020, and lasted 10–23 days. We identified SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal swab samples using real-time quantitative reverse transcription PCR (qRT-PCR) 2–4 days after symptom onset (*2*). All 4 HCWs had mild COVID-19 signs and symptoms and recovered (Table). After signs and symptoms resolved, the HCWs tested negative by qRT-PCR, Elecsys Anti-SARS-CoV-2 (Roche Diagnostics, https://diagnostics.roche.com), or both. Reinfection, confirmed by a nucleic acid amplification test using the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (*3*), developed 55–170 days after symptom onset of the first infection. Signs and symptoms of reinfection lasted 9–23 days. Only 1 HCW had a concurrent condition (chronic bronchitis), and none were immunosuppressed. None required hospitalization during the initial or reinfection episodes (Table). After recovering from their initial infections, all HWCs continued to use the same types of personal protective equipment (i.e., disposable surgical masks, gloves, gowns, and goggles) in accordance with recommendations from the Ministry of Health of Brazil (https://coronavirus.saude.gov.br/saude-e-seguranca-do-trabalhador-epi).

To assess whether infectious SARS-CoV-2 particles were shed in nasopharyngeal secretions during both COVID-19 episodes, we conducted viral isolation in Vero cells (ATCC no. CCL-81) (W.M. de Souza, unpub. data, http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.3793486) (Appendix). We inoculated Vero cells with isolated SARS-CoV-2 virions from nasopharyngeal swab samples collected during the first and second infections; we observed a cytopathic effect 3–4 days after inoculation. On day 4, we obtained cell culture supernatant by centrifugation and conducted qRT-PCR selective for the envelope gene to confirm the presence of SARS-CoV-2 RNA; we found the supernatants had 2.8×10^2–1.4×10^{10} RNA copies/mL (*2*).

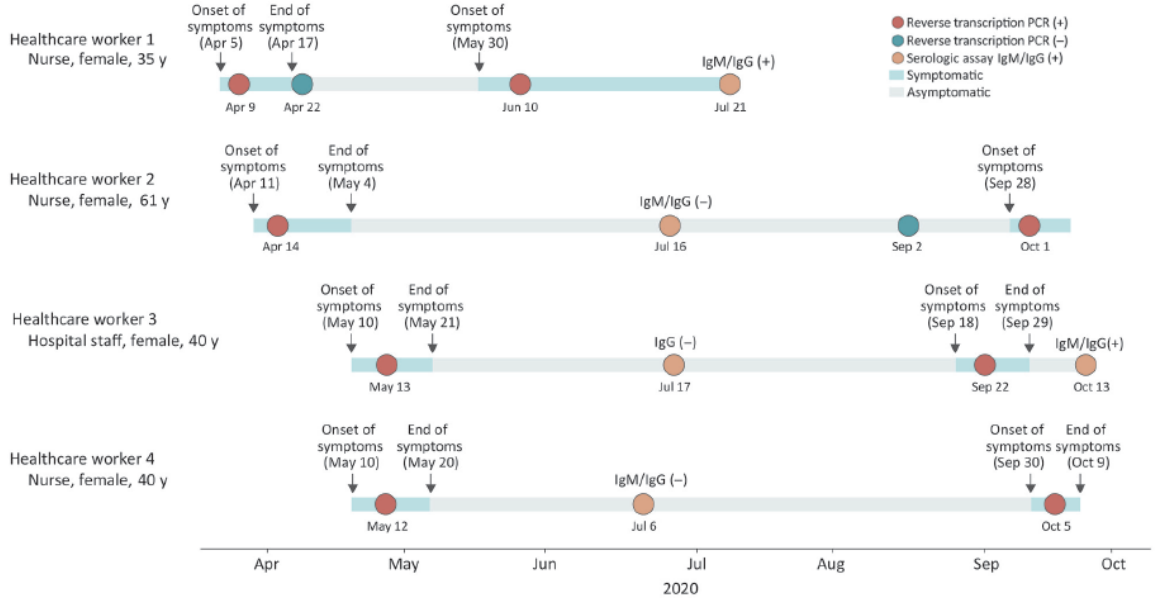


Figure. Timeline of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reinfections (SARS-CoV-2) among healthcare workers, Brazil, 2020. (+), positive; (–), negative.

Table. Characteristics of healthcare workers with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 reinfections, Brazil, 2020*

Characteristic	Healthcare worker 1	2	3	4
Underlying conditions	None	Chronic bronchitis	None	None
Hospitalized	No	No	No	No
Symptoms				
First infection	Fever, headache, chills, sneezing, coryza, and myalgia	Headache, cough, myalgia, odynophagy, coryza, diarrhea, and ageusia	Nasal congestion, coryza, cough, ageusia	Fever, headache, myalgia, coryza, dry cough, vomiting, and malaise
Second infection	Headache, nasal congestion, odynophagia, ageusia, and anosmia	Cough, myalgia, odynophagia, anosmia, and diarrhea	Odynophagia, sneezing, coryza, diarrhea, ageusia, and anosmia	Odynophagia, dry cough, myalgia, malaise, coryza, and headache
Cycle threshold values				
First infection†	E gene: 35.24; N gene: 40.12	E gene: 31.8	E gene: 35.15	E gene: 34.80; RdRp gene: 39.86
Second infection‡	E gene: 31.14; N gene: 31.3; RdRp gene: 32.58	E gene: 20.45; N gene: 20.52; RdRp gene: 22.65	E gene: 26.04; N gene: 26.88; RdRp gene: 28.40	E gene: 23.72; N gene: 23.48; RdRp gene: 25.67
Time between symptom onsets, d	55	170	131	148

*E gene, envelope gene; N gene, nucleoprotein gene; RdRp gene, RNA dependent RNA polymerase gene.
†Real-time quantitative reverse transcription PCR selective for the envelope gene (*2*).
‡Nucleic acid amplification test using the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (OSANG Healthcare Co. Ltd., http://www.osanghc.com) (*3*).

We confirmed viral isolation by the increased number of RNA copies per milliliter and the decreased cycle threshold values after passage into Vero cells. The isolation of SARS-CoV-2 shows that nasopharyngeal swab samples contained infectious particles during both COVID-19 episodes.

SARS-CoV-2 variants of concern (VOCs; i.e., lineages B.1.1.7, B.1.351, and P.1.), and particularly their mutations in the spike protein, have been associated with reinfection (*4*,*5*). To investigate this association, we sequenced SARS-CoV-2 genomes from samples or isolates in this study using the ARTIC version 3 protocol (https://artic.network/ncov-2019) with MinION sequencing (Oxford Nanopore Technologies, https://nanoporetech.com). We obtained sequences with 66%–99% genome coverage (mean depth >20-fold) for 3 of 4 HCWs (Appendix Figure, https://wwwnc.cdc.gov/EID/article/27/6/21-0558-App1.pdf). We submitted the sequences to GISAID (https://www.gisaid.org; accession nos. EPI_ISL_1511399, EPI_ISL_1511603, EPI_ISL_1511641, and EPI_ISL_1511644). We used the Pangolin COVID-19 Lineage Assigner tool (*6*) to classify samples as members of lineages B.1.1.28 (n = 3) and B.1.1.33 (n = 1); 3 of these samples were taken during the reinfection episodes of HCWs 1, 2, and 4 and 1 during the first episode of HCW 1 (Appendix Figure). These lineages have circulated in Brazil since early March 2020 (*7*) and have not been associated with reinfection or long-term infection. In addition, we found the D614G mutation in the spike protein in samples from both episodes of HCW 1 and the second episode of HCW 2. The D614G mutation has been associated with enhanced viral replication in the upper respiratory tract and increased susceptibility of the virus to neutralization by antibodies (*8*). In addition, we found the V1176F mutation in the spike protein in samples from both episodes of HCW 1 and the second episode of HCW 4; however, the effects of this mutation remain unclear. None of the genomes had the mutations in spike proteins described in 3 recent VOCs (https://cov-lineages.org). Other cases of SARS-CoV-2 reinfection by strains without mutations in the spike protein were documented in India; those infections were associated with lineages B.1.1.8 and B.1.1.29 (*9*). Our results provide additional evidence of SARS-CoV-2 reinfection by non-VOC strains.

In conclusion, we report cases of SARS-CoV-2 reinfection among HCWs. We observed the shedding of infectious viral particles during both infection episodes of each HCW. Hence, the continuation of protective measures, as well as efforts to monitor, track exposures, and identify areas at high risk for infection, are critical to reducing SARS-CoV-2 reinfection, especially among HCWs.

Acknowledgments

We thank Thermo Fisher Scientific, which kindly provided an EVOS inverted microscope for the Biosafety Level 3 facility at Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes. We also thank the UNICAMP Task Force Against COVID-19, which facilitated this study. We thank Ministry of Science, Technology and Innovation of Brazil (MCTI) and all members of the Corona-ômica network for financial support. We thank Lucy Matkin for proofreading the text.

This study was supported by grants from São Paulo Research Foundation (FAPESP; grant nos. 2016/00194-8 and 2020/04558-0) and Fundo de apoio ao ensino, pesquisa e extensão da UNICAMP (grant no. 2266/20). This study was also supported by MCTI through the Rede Corona-ômica Brazil/MCTI (funded by the Financier of Studies and Projects [FINEP] grant no. 01.20.0003.00), RedeVírus/MCTI (FINEP grant no. 01.20.0029.000462/20), and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development, CNPq, grant no. 404096/2020-4). This project was supported by the Medical Research Council and FAPESP–Brazil–UK Centre for (Arbo)virus Discovery, Diagnosis, Genomics and Epidemiology partnership award (grant nos. MR/S0195/1 and FAPESP 2018/14389-0). W.M.S. is supported by FAPESP (grant nos. 2017/13981-0 and 2019/24251-9) and CNPq (grant no. 408338/2018-0). N.R.F. is supported by a Wellcome Trust and Royal Society Sir Henry Dale Fellowship (grant no. 204311/Z/16/Z). K.B.S., CLS., and P.L.P were supported by FAPESP fellowships (grant nos. 2020/02159-0, 2020/02448-2, and 2017/26908-0). M.R.A. was supported by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel fellowships. D.A.T.T. and L.S.M. were supported by CNPq fellowships (grant nos. 141844/2019-1 and 382206/2020-7).

About the Author

Ms. Amorim is a doctoral candidate at the Department of Genetics, Evolution, Microbiology and Immunology at the University of Campinas, Brazil. Her research interests include genomic sequencing and epidemiologic surveillance of emerging viruses in Brazil.

References

1. Pan American Health Organization/World Health Organization. Interim guidelines for detecting cases of reinfection by SARS-CoV-2. Washington (DC): The Organizations; 2020.
2. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR [Erratum in: Euro Surveill. 2020;25: 20200409c; 2020;25:2007303]. Euro Surveill. 2020;25:2000045. https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045
3. Ong DSY, Claas ECJ, Breijer S, Vaessen N. Comparison of the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit on the sample-to-result Platform ELITe InGenius to the national reference method: an added value of N gene target detection? J Clin Virol. 2020;132:104632. https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104632
4. Harrington D, Kele B, Pereira S, Couto-Parada X, Riddell A, Forbes S, et al. Confirmed reinfection with SARS-CoV-2 variant VOC-202012/01. Clin Infect Dis. 2021 Jan 9 [Epub ahead of print]. https://doi.org/10.1093/cid/ciab014
5. Nonaka CKV, Franco MM, Gräf T, de Lorenzo Barcia CA, de Ávila Mendonça RN, de Sousa KAF, et al. Genomic evidence of SARS-CoV-2 reinfection involving E484K spike mutation, Brazil. Emerg Infect Dis. 2021;27:27. https://doi.org/10.3201/eid2705.210191
6. Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, Hill V, McCrone JT, Ruis C, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. Nat Microbiol. 2020;5:1403–7. https://doi.org/10.1038/s41564-020-0770-5
7. Candido DS, Claro IM, de Jesus JG, Souza WM, Moreira FRR, Dellicour S, et al.; Brazil–UK Centre for Arbovirus Discovery, Diagnosis, Genomics and Epidemiology Genomic Network. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. Science. 2020;369:1255–60. https://doi.org/10.1126/science.abd2161
8. Plante JA, Liu Y, Liu J, Xia H, Johnson BA, Lokugamage KG, et al. Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. Nature. 2021;592:116–21. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2895-3
9. Kulkarni O, Narreddy S, Zaveri L, Kalal IG, Tallapaka KB, Sowpati DT. Evidence of SARS-CoV-2 reinfection without mutations in spike protein. Clin Infect Dis. 2021 Feb 16 [Epub ahead of print]. https://doi.org/10.1093/cid/ciab136

Address for correspondence: Jose Luiz Proenca-Modena, Universidade Estadual de Campinas—Genetics, Microbiology and Immunology Rua Monteiro Lobato, 255—Cidade Universitária Campinas Sao Paulo 13083-862, Brazil; email: jlmodena@unicamp.br; Fabiana Granja, Universidade Federal de Roraima, Boa Vista, Roraima, Brazil; email: fabiana.granja@ufrr.br

Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults after Mild SARS-CoV-2 Infection, Japan

Yasuhiro Yamada,[1] Kaoru Fujinami,[1] Tadashi Eguchi, Hiroshi Takefuji, Nobuaki Mori

Author affiliations: National Hospital Organization Tokyo Medical Center, Tokyo, Japan (Y. Yamada, K. Fujinami, T. Eguchi, H. Takefuji, N. Mori); University College London, London, UK (K. Fujinami)

DOI: https://doi.org/10.3201/eid2706.210728

In Japan, a 51-year-old man had minimally symptomatic severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection. Multisystem inflammatory syndrome was diagnosed ≈5 weeks later; characteristics included severe inflammation, cardiac dysfunction, and IgG positivity. Clinicians should obtain detailed history and examine IgG levels for cases of inflammatory disease with unexplained cardiac decompensation.

[1]These authors contributed equally to this article.

Material suplementar – Artigo 2

Article DOI: https://doi.org/10.3201/eid2706.210558

Respiratory Viral Shedding in Healthcare Workers Reinfected with SARS-CoV-2, Brazil, 2020

Appendix

Materials and Methods

Sample Collection and Ethics

We used residual serum and nasopharyngeal swab samples collected at distinct time points corresponding to the period when patients had coronavirus disease (COVID-19) symptoms. Data, including age, sex, occupation, sample collection data, symptoms, and concurrent conditions, were collected from electronic health records (Appendix Table).

SARS-CoV-2 Diagnosis

Viral RNA was extracted using the Quick-RNA viral kit (Zymo Research, https://www.zymoresearch.com) following the manufacturer recommended procedures. The RNA from samples were tested for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by real-time quantitative reverse transcription PCR selective for the envelope gene and nucleic acid amplification test using the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (OSANG Healthcare Co. Ltd., http://www.osanghc.com) (Appendix Table) (*2*,*3*). In addition, the IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2 proteins were measured by Elecsys Anti-SARS-CoV-2 (Roche Diagnostics, https://diagnostics.roche.com), according to the manufacturer instructions.

Virus Isolation

Nasopharyngeal lavage samples were inoculated into Vero cells (CCL-81) for virus isolation using the method described previously (W.M. de Souza, upub. data, https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3793486). Briefly, 5×10^5 cells/mL of Vero cells were plated in a T225 flask with Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) containing 10% fetal bovine serum and 1% of 10,000 units of penicillin and 10 mg of streptomycin/mL solution (Sigma-Aldrich Inc., https://www.sigmaaldrich.com). Next, samples were thawed on ice, diluted 1:10 in DMEM, and centrifuged at 12.000 × g for 5 min

at 4°C. Samples were filtered using 0.22 µm syringe filters, and incubated on ice for 1 h with a solution of DMEM with 10,000 units of penicillin, 10 mg of streptomycin/mL, and 250 µg/mL amphotericin B (i.e., 1:1 ratio) (Sigma-Aldrich, Inc.) in a final dilution of 1:10. After incubation at 37°C for 1 h, the inoculum was removed and replaced with fresh culture medium. Cells were incubated at 37°C and observed for cytopathic effects daily up to 4 days. Supernatant was collected daily and viral replication was confirmed through the increase of cycle threshold value using real-time quantitative reverse transcription PCR (*2*). All experiments related to culture cells and viral replication were performed in the Biosafety Level 3 laboratory at the Emerging Viruses Laboratory of the University of Campinas, Campinas, Brazil.

SARS-CoV-2 Genome Sequencing and Analysis

SARS-CoV-2 genome sequencing was carried out using the ARTIC version 3 (https://artic.network/ncov-2019) protocol with MinION sequencing (Oxford Nanopore Technologies, https://nanoporetech.com). cDNA was synthesized using the extracted RNA with random hexamers and the Protoscript II First Strand cDNA synthesis Kit (New England Biolabs, https://www.neb.com). Then, we performed the SARS-CoV-2 whole-genome multiplex-PCR amplification using ARTIC network SARS-CoV-2 V3 primer scheme and Q5 High-Fidelity DNA polymerase (New England Biolabs). The PCR product was purified using AMPure XP magnetic beads (Beckman Coulter, Inc., https://www.beckmancoulter.com), according to manufacturer instructions. DNA was quantified using Qubit dsDNA High Sensitivity assay on the Qubit 3.0 (Thermo Fischer Scientific, https://www.thermofisher.com). To uniform sequencing, equimolar normalization of 10 ng per sample was performed followed by barcoding using the EXP-NBD104 Native Barcoding Kits (Oxford Nanopore Technologies). Then, barcoded samples were pooled followed by library preparation using the SQK-LSK109 Kit (Oxford Nanopore Technologies). Finally, Nanopore sequencing libraries were loaded onto an R9.4.1 flow-cell (Oxford Nanopore Technologies) and sequenced using MinKNOW version 20.10.3 (Oxford Nanopore Technologies). FAST5 files containing the raw signal data were basecalled, demultiplexed, and trimmed using Guppy version 4.4.1 (Oxford Nanopore Technologies). The reads were aligned against the reference genome Wuhan-Hu-1 (GenBank accession no. MN908947) using minimap2 version 2.17.r941 (https://github.com/lh3/minimap2) and converted to a sorted BAM file using SAMtools (http://samtools.sourceforge.net). Length filtering, quality test, primmer trimming, variant calling and consensus sequences were performed for each

barcode using guppyplex from ARTIC (https://artic.network/ncov-2019). Genome regions with a depth of <20-fold were represented with N characters. Tablet alignment viewer (version 1.19.09.03) (https://ics.hutton.ac.uk/tablet) was used to visualize the mapped sequence. Finally, the 2 genomes were uploaded to the CoV-GLUE online resource (J. Singer, unpub. data, https://www.preprints.org/manuscript/202006.0225/v1) for mutation determination. The sequences have been uploaded to GISAID under the accession nos. EPI_ISL_1511399, EPI_ISL_1511603, EPI_ISL_1511641, and EPI_ISL_1511644.

HCW 1 (first infection)
EPI_ISL_1511641 (coverage = 99.4%)

Gene	Nucleotide	Amino acid
nsp7	C12053T	L71F
nsp12	C14408T	P323L
nsp15	C20132T	A171V
S	A23403G	D614G
	G25088T	V1176F
N	G28881A,G28882A	R203K
	G28883C	G204R

HCW 1 (second infection)
EPI_ISL_1511644 (coverage=97.0%)

Gene	Nucleotide	Amino acid
nsp7	C12053T	L71F
nsp12	C14408T	P323L
nsp15	C20132T	A171V
S	A23403G	D614G
	G25088T	V1176F
N	G28881A,G28882A	R203K
	G28883C	G204R

HCW 2 (second infection)
EPI_ISL_1511399 (coverage = 97.2%)

Gene	Nucleotide	Amino acid
nsp2	C1601T	L266F
	G2447T	G548C
nsp6	G11317T	M115I
nsp12	C14408T	P323L
nsp14	G18255T	M72I
S	A23403G	D614G
	G23587C	Q675H
E	C26447T	S68F
M	G26763T	A81S
ORF 6	T27299C	I33T
N	G28881A, G28882A	R203K
	G28883C	G204R
	T29148C	I292T
	G29513T	A414S

HCW 4 (second infection)
EPI_ISL_1511603 (coverage = 66.3%)

Gene	Nucleotide	Amino acid
nsp2	A1682C	I293L
nsp6	C11036T	L22F
nsp12	C14408T	P323L
S	G25088T	V1176F
N	G28655C	D128H
	G28881A,G28882A	R203K
	G28883C	G204R

Appendix Figure. Severe acute respiratory syndrome coronavirus mutations in 3 of 4 reinfected HCWs, Brazil, 2020. Wuhan-Hu-1 (GenBank accession no. MN908947) used as reference sequence. E, envelope protein; HCW, healthcare worker; M, matrix protein; N, nucleoprotein; S, spike protein.

Tabela 1. Outras reinfecções identificadas durante o período do estudo, de março de 2020 a fevereiro de 2022.

ID	Profissional da saúde	Sexo	PCR 1ª infecção	Linhagem 1ª infecção	PCR 2ª infecção	Linhagem 2ª infecção	Intervalo de dias
RE-01	S	M	2020-11-27	Zeta (P.2)	2022-01-20	Omicron (BA.1)	419
RE-02	N	F	2021-01-18	ns	2022-01-20	Omicron (BA.1.1)	367
RE-03	N	F	2021-07-23	Gamma (P.1)	2022-02-02	ns	194
RE-04	S	F	2020-09-02	ns	2022-10-02	Omicron (BA.1)	760
RE-05	N	M	2021-07-05	ns	2022-02-05	ns	215
RE-06	N	M	2021-07-13	Gamma (P.1)	2022-02-01	Omicron (BA.1.1.18)	203
RE-07	S	F	2020-04-07	B.1	2022-02-14	Omicron (BA.1)	678
RE-08	N	M	2021-06-10	Gamma (P.1)	2022-01-31	Omicron (BA.1)	235
RE-09	S	F	2020-04-19	ns	2021-01-11	Gamma (P.1)	267
RE-10	N	M	2021-08-03	ns	2021-12-14	ns	133
RE-11	S	F	2021-05-06	ns	2022-02-18	ns	288
RE-12	S	F	2021-03-11	ns	2022-01-10	ns	305
RE-13	S	F	2021-07-21	Gamma (P.1)	2022-01-25	ns	188
RE-14	N	M	2021-01-26	ns	2022-02-18	ns	388
RE-15	S	F	2020-12-10	N.9	2022-02-07	ns	424
RE-16	N	M	2021-02-26	Gamma (P.1)	2022-01-20	Omicron (BA.1.1)	328
RE-17	S	F	2021-01-12	Gamma (P.1)	2022-01-21	ns	374
RE-18	S	F	2020-05-29	ns	2022-01-12	Omicron (BA.1)	593
RE-19	S	M	2020-08-17	B.1.1.28	2022-02-07	ns	539
RE-20	N	F	2020-11-15	B.1.1.33	2022-01-27	Omicron (BA.1.1)	438
RE-21	N	F	2021-02-12	Zeta (P.2)	2022-01-15	Omicron (BA.1)	337
RE-22	N	M	2021-02-12	Gamma (P.1)	2022-02-24	ns	377
RE-23	S	F	2020-08-28	B.1.1.28	2022-01-21	Omicron (BA.1)	511
RE-24	N	M	2021-06-17	ns	2022-01-19	Omicron (BA.1)	216
RE-25	N	M	2020-06-08	B.1.1.33	2022-02-10	ns	612
RE-26	S	F	2021-03-02	Gamma (P.1)	2022-01-17	Omicron (BA.1)	321
RE-27	N	F	2021-01-28	B.1.1.28	2022-01-20	Omicron (BA.1.1)	357
RE-28	N	F	2021-06-10	Gamma (P.1)	2022-01-17	Omicron (BA.1)	221
RE-29	S	F	2020-07-15	B.1.1.28	2022-01-13	Omicron (BA.1)	547
RE-30	S	F	2020-06-28	B.1.1.33	2022-01-11	ns	562

RE-31	S	F	2020-09-21	ns	2022-01-28	ns	494
RE-32	S	M	2020-06-02	ns	2021-05-23	ns	355
RE-33	N	F	2021-03-01	Zeta (P.2)	2022-01-27	Omicron (BA.1.14.1)	332
RE-34	S	F	2021-03-22	ns	2021-07-12	ns	112
RE-35	N	M	2021-05-24	Gamma (P.1)	2022-01-13	Omicron (BA.1.1)	234
RE-36	S	F	2020-06-22	B.1.1.28	2022-02-23	ns	611
RE-37	S	M	2020-05-28	ns	2022-01-15	ns	597
RE-38	S	F	2020-08-18	ns	2022-01-13	ns	513
RE-39	N	M	2021-07-12	Gamma (P.1)	2022-01-27	ns	199
RE-40	N	F	2021-04-30	Gamma (P.1)	2022-01-17	ns	262
RE-41	S	F	2021-01-18	ns	2022-02-17	Omicron (BA.1.1)	395
RE-42	S	F	2021-08-10	Gamma (P.1)	2022-01-14	Omicron (BA.1)	157
RE-43	N	F	2021-05-18	Gamma (P.1)	2022-01-25	Omicron (BA.1.1)	252
RE-44	S	F	2021-05-25	Gamma (P.1)	2022-02-05	ns	256
RE-45	N	F	2021-07-15	Gamma (P.1)	2022-01-17	ns	186
RE-46	S	F	2021-06-15	Gamma (P.1)	2022-01-03	ns	202
RE-47	N	F	2021-07-05	Gamma (P.1)	2022-02-03	Omicron (BA.1)	213
RE-48	S	M	2021-05-12	Gamma (P.1)	2021-10-26	ns	167
RE-49	S	F	2021-08-13	ns	2022-02-10	Omicron (BA.1)	181
RE-50	N	F	2021-07-12	Gamma (P.1)	2022-02-22	Omicron (BA.1)	225
RE-51	S	M	2020-12-10	B.1.1.28	2022-02-11	Omicron (BA.1.1)	428

ns = linhagem não identificada. S = sim, N = não, F = feminino, M = masculino, PCR = reação em cadeia da polimerase, datas exibidas no formato ano-mês-dia (yyy-mm-dd).

CAPÍTULO III: Vigilância epidemiológica, genômica e imunológica de SARS-CoV-2 após vacinação em Campinas

A aplicação das primeiras vacinas em Campinas aconteceu em janeiro de 2021. Todavia, nesse mesmo período, VOCs e VOIs, como a Gamma, Zeta e Alpha, emergiram e/ou se disseminaram no Brasil, levantando questionamentos sobre a possibilidade desses novos vírus poderem “escapar” de anticorpos neutralizantes induzidos por infecções prévias ou vacinação, sendo assim capazes de infectar e serem transmitidos por indivíduos previamente infectados ou mesmo vacinados. Neste capítulo são apresentados dois estudos, um que aborda o escape da variante Gamma de parte dos anticorpos neutralizantes produzidos após a vacinação ou infecções prévias por SARS-CoV-2 (Artigo 2), e outro que aborda a infecção e transmissão da variante Alpha por indivíduos previamente infectados (Artigo 3).

i. Neutralização da variante Gamma (P.1) por anticorpos produzidos em infecção natural ou pós vacinação

Neste subcapítulo, foram estudadas amostras de plasma de doadores convalescentes, doadores que haviam recebido apenas 1 dose da vacina de vírus inativado Coronavac, e doadores que haviam recebido o esquema vacinal completo da mesma vacina. Essas amostras foram testadas frente a variante Gamma (P.1), a qual foi isolada no LEVE a partir de amostras clínicas oriundas de Manaus, e frente a linhagem ancestral (B.1). Foram realizados 2 tipos de testes para avaliação da ação de anticorpos neutralizantes contidos nas amostras, o ensaio que avalia a ação neutralizante de anticorpos através da formação de placas de infecção em cultura de células - PRNT, e o ensaio de neutralização viral – VNT.

Os resultados obtidos mostraram a capacidade da variante Gamma de SARS-CoV-2 de escapar de parte dos anticorpos neutralizantes previamente produzidos e levantaram um alerta para a possibilidade de indivíduos previamente infectados e vacinados serem infectados e transmitirem esse novo vírus para indivíduos ainda não protegidos. Ou seja, num cenário em que apenas uma pequena parcela da população tinha sido imunizada, esse estudo apontou para a necessidade de indivíduos vacinados continuarem a adotar medidas não farmacológicas que tivessem como objetivo minimizar a chance de transmissão de SARS-CoV-2 para indivíduos não vacinados. Esses resultados devem ser compreendidos como

norteadores na adoção de medidas de contenção em momentos em que a cobertura vacinal ainda era baixa. Os resultados do subcapítulo foram publicados na revista *Lancet Microbe*, em julho de 2021.

ii. Investigação de surtos da variante Alpha em indivíduos vacinados

O segundo subcapítulo (ii) traz resultados de um estudo realizado em parceria direta com a DEVISA, na investigação de surtos do vírus SARS-CoV-2 em ambientes fechados, com populações vacinadas. Entre os casos investigados, foi possível a identificação e investigação de surtos em dois ambientes, onde residiam pessoas de grupo de risco e em isolamento social. Ambos os surtos aconteceram em Campinas, sendo um deles em um convento, e o outro em uma casa de repouso para idosos. Em ambos os surtos, havia pessoas com o esquema de vacinação completo ou parcial. Amostras de swab nasofaríngeo foram coletadas e entregues à Força Tarefa para realização do diagnóstico, e o material biológico residual foi utilizado nesta tese para isolamento de partículas virais viáveis, identificação da linhagem viral e estudo filogenético, e investigação da presença de anticorpos neutralizantes em amostras de soro das populações do estudo.

Através do sequenciamento do genoma, foi identificada a então VOC Alpha em ambos os surtos, e que se tratava de surtos independentes, com diferentes introduções. Foi possível realizar o isolamento de partículas virais viáveis a partir de 2 amostras de swab nasofaríngeo, mostrando que mesmo após a vacinação, essa variante poderia infectar e se replicar em alguns indivíduos. A colaboração resultou em uma tomada de decisões rápida pela vigilância que conseguiu adotar medidas de prevenção e controle da dispersão. Além disso, através do isolamento da variante Alpha das amostras coletadas, foi possível a realização de testes para avaliar a presença de anticorpos neutralizantes em amostras de soro das populações estudadas, e proteção contra doença grave. Os resultados foram publicados na revista *Viruses* em outubro de 2021.

Artigo 3. de Souza, W; Amorim, MR; Sesti-Costa, R *et. al*, 2021

Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study

William M Souza, Mariene R Amorim*, Renata Sesti-Costa*, Lais D Coimbra, Natalia S Brunetti, Daniel A Toledo-Teixeira, Gabriela F de Souza, Stefanie P Muraro, Pierina L Parise, Priscilla P Barbosa, Karina Bispo-dos-Santos, Luciana S Mofatto, Camila L Simeoni, Ingra M Claro, Adriana S S Duarte, Thais M Coletti, Audrey B Zangirolami, Carolina Costa-Lima, Arilson B S P Gomes, Lucas I Buscaratti, Flavia C Sales, Vitor A Costa, Lucas A M Franco, Darlan S Candido, Oliver G Pybus, Jaqueline G de Jesus, Camila A M Silva, Mariana S Ramundo, Giulia M Ferreira, Mariana C Pinho, Leandro M Souza, Esmenia C Rocha, Pamela S Andrade, Myuki A E Crispim, Grazielle C Maktura, Erika R Manuli, Magnun N N Santos, Cecilia C Camilo, Rodrigo N Angerami, Maria L Moretti, Fernando R Spilki, Clarice W Arns, Marcelo Addas-Carvalho, Bruno D Benites, Marco A R Vinolo, Marcelo A S Mori, Nelson Gaburo, Christopher Dye, Henrique Marques-Souza, Rafael E Marques, Alessandro S Farias, Michael S Diamond, Nuno R Faria†, Ester C Sabino†, Fabiana Granja†, Jose Luiz Proença-Módena†*

Summary

Background Mutations accrued by SARS-CoV-2 lineage P.1—first detected in Brazil in early January, 2021—include amino acid changes in the receptor-binding domain of the viral spike protein that also are reported in other variants of concern, including B.1.1.7 and B.1.351. We aimed to investigate whether isolates of wild-type P.1 lineage SARS-CoV-2 can escape from neutralising antibodies generated by a polyclonal immune response.

Methods We did an immunological study to assess the neutralising effects of antibodies on lineage P.1 and lineage B isolates of SARS-CoV-2, using plasma samples from patients previously infected with or vaccinated against SARS-CoV-2. Two specimens (P.1/28 and P.1/30) containing SARS-CoV-2 lineage P.1 (as confirmed by viral genome sequencing) were obtained from nasopharyngeal and bronchoalveolar lavage samples collected from patients in Manaus, Brazil, and compared against an isolate of SARS-CoV-2 lineage B (SARS.CoV2/SP02.2020) recovered from a patient in Brazil in February, 2020. Isolates were incubated with plasma samples from 21 blood donors who had previously had COVID-19 and from a total of 53 recipients of the chemically inactivated SARS-CoV-2 vaccine CoronaVac: 18 individuals after receipt of a single dose and an additional 20 individuals (38 in total) after receipt of two doses (collected 17–38 days after the most recent dose); and 15 individuals who received two doses during the phase 3 trial of the vaccine (collected 134–230 days after the second dose). Antibody neutralisation of P.1/28, P.1/30, and B isolates by plasma samples were compared in terms of median virus neutralisation titre (VNT_{50}, defined as the reciprocal value of the sample dilution that showed 50% protection against cytopathic effects).

Findings In terms of VNT_{50}, plasma from individuals previously infected with SARS-CoV-2 had an 8·6 times lower neutralising capacity against the P.1 isolates (median VNT_{50} 30 [IQR <20–45] for P.1/28 and 30 [<20–40] for P.1/30) than against the lineage B isolate (260 [160–400]), with a binominal model showing significant reductions in lineage P.1 isolates compared with the lineage B isolate ($p \leq 0 \cdot 0001$). Efficient neutralisation of P.1 isolates was not seen with plasma samples collected from individuals vaccinated with a first dose of CoronaVac 20–23 days earlier (VNT_{50}s below the limit of detection [<20] for most plasma samples), a second dose 17–38 days earlier (median VNT_{50} 24 [IQR <20–25] for P.1/28 and 28 [<20–25] for P.1/30), or a second dose 134–260 days earlier (all VNT_{50}s below limit of detection). Median VNT_{50}s against the lineage B isolate were 20 (IQR 20–30) after a first dose of CoronaVac 20–23 days earlier, 75 (<20–263) after a second dose 17–38 days earlier, and 20 (<20–30) after a second dose 134–260 days earlier. In plasma collected 17–38 days after a second dose of CoronaVac, neutralising capacity against both P.1 isolates was significantly decreased ($p=0 \cdot 0051$ for P.1/28 and $p=0 \cdot 0336$ for P.1/30) compared with that against the lineage B isolate. All data were corroborated by results obtained through plaque reduction neutralisation tests.

Interpretation SARS-CoV-2 lineage P.1 might escape neutralisation by antibodies generated in response to polyclonal stimulation against previously circulating variants of SARS-CoV-2. Continuous genomic surveillance of SARS-CoV-2 combined with antibody neutralisation assays could help to guide national immunisation programmes.

Funding São Paulo Research Foundation, Brazilian Ministry of Science, Technology and Innovation and Funding Authority for Studies, Medical Research Council, National Council for Scientific and Technological Development, National Institutes of Health.

Lancet Microbe 2021; 2: e527–35

Published Online July 8, 2021 https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00129-4

*Contributed equally

†Senior authors; contributed equally

For the Portuguese translation of the abstract see Online for appendix 1

Virology Research Centre, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, Brazil (W M Souza PhD); **Laboratory of Emerging Viruses** (M R Amorim MSc, D A Toledo-Teixeira MSc, G F de Souza MSc, S P Muraro MSc, P L Parise BSc, P P Barbosa MSc, K Bispo-dos-Santos BSc, L S Mofatto PhD, C L Simeoni BSc, F Granja PhD, J L Proença-Módena PhD), **Autoimmune Research Laboratory** (N S Brunetti BSc, A S Farias PhD), **Laboratory of Immunoinflammation** (A B S P Gomes BSc, M A R Vinolo PhD), **and Animal Virology Laboratory** (Prof C W Arns PhD), **Department of Genetics, Microbiology and Immunology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas, Brazil; Brazilian Biosciences National Laboratory, Brazilian Centre for Research in Energy and Materials, Campinas, Brazil** (R Sesti-Costa PhD, L D Coimbra MSc, R E Marques PhD); **Hematology**

and Hemotherapy Center (R Sesti-Costa, A S S Duarte PhD, A B Zangirolami MSc, C Costa-Lima MSc), **Hematology and Transfusion Medicine Center** (V A Costa BSc, G M Ferreira BSc, M Addas-Carvalho PhD, B D Benites PhD), **Experimental Medicine Research Cluster,** (M A S Mori PhD, A S Farias, J L Proença-Módena), **and Obesity and Comorbidities Research Center** (M A S Mori, A S Farias), **University of Campinas, Campinas, Brazil; Tropical Medicine Institute, Medical School** (I M Claro BSc, T M Coletti BSc, F C Sales BSc, L A M Franco PhD, J G de Jesus PhD, C A M Silva BSc, M S Ramundo PhD, G M Ferreira, M C Pinho BSc, L M Souza BSc, E C Rocha BSc, P S Andrade BSc, E R Manuli BSc, N R Faria DPhil, Prof E C Sabino PhD), **Department of Infectious and Parasitic Disease, Medical School** (I M Claro, F C Sales, E R Manuli, Prof E C Sabino), **and School of Public Health** (P S Andrade), **University of São Paulo, São Paulo, Brazil; Brazilian Laboratory on Silencing Technologies** (L I Buscaratti BSc, G C Maktura PhD, H Marques-Souza PhD) **and Laboratory of Aging Biology,** (M A S Mori), **Department of Biochemistry and Tissue Biology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas, Brazil; Department of Zoology, University of Oxford, UK** (D S Candido MSc, O G Pybus DPhil, C Dye DPhil, N R Faria); **Laboratory of Virology, Institute of Biomedical Sciences, Federal University of Uberlândia, Uberlândia, Brazil** (G M Ferreira); **Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, Manaus, Brazil** (M A E Crispim PhD); **Department of Clinical Pathology** (M N N Santos PhD) **and Department of Internal Medicine** (R N Angerami PhD, Prof M L Moretti PhD), **School of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas, Brazil; CDL Laboratório Santos e Vidal, Manaus, Brazil** (C C Camilo BSc); **Campinas Department of Public Health Surveillance, Campinas, Brazil** (R N Angerami); **One Health**

Copyright © 2021 The Author(s). Published by Elsevier Ltd. This is an Open Access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license.

Introduction

SARS-CoV-2 is a betacoronavirus (in the Coronaviridae family) that was first reported in Wuhan, China, in December, 2019.[1] As of May 7, 2021, SARS-CoV-2 has caused more than 155 million cases and 3·2 million deaths globally.[2] More than 1·45 million SARS-CoV-2 genome sequences have been classified in over 900 lineages.[3] The appearance and spread of some mutations in the spike protein, such as Asp614Gly, have resulted in more transmissible SARS-CoV-2 variants.[4] The spike protein's receptor-binding domain (RBD) and N-terminal domain (NTD) are the primary targets of neutralising antibodies in the SARS-CoV-2 response;[5,6] however, the RBD is a highly variable region, and circulating SARS-CoV-2 might be under antibody-mediated selective pressure.[7] Consequently, the emergence of SARS-CoV-2 variants with mutations in the RBD has raised concerns that neutralising antibody responses, and the effectiveness of vaccination programmes, could be compromised.[8]

In late 2020, the B.1.1.7 lineage was detected in the UK and the B.1.351 lineage detected in South Africa.[9,10] As of May 7, 2021, B.1.1.7 has been identified in 114 countries and B.1.351 in 68 countries.[3] Both these lineages have enhanced transmissibility compared with previously circulating SARS-CoV-2 lineages, and carry unique constellations of spike protein mutations. Wild-type SARS-CoV-2 isolates or pseudoviruses carrying the same mutations described in these lineages showed reduced neutralisation by immune sera from individuals who had received an mRNA vaccine (eg, BNT162b2 [tozinameran; developed by Pfizer–BioNTech] or mRNA-1273 [Moderna]) or adenoviral-vectored vaccine (eg, ChAdOx1 nCoV-19 [Oxford University–AstraZeneca]), suggesting that these lineages might be inhibited by vaccine-mediated humoral immunity.[11–13] A new SARS-CoV-2 lineage P.1 was discovered in Manaus, Brazil, in early January, 2021.[14] P.1 has a signature set of 15 unique amino acid changes, including a trio of mutations (Lys417Thr, Glu484Lys, and Asn501Tyr) in the RBD that also are present in the B.1.351 lineage.[14] In this study, we investigated whether the full set of mutations found in the spike protein of the P.1 lineage can escape from neutralising antibodies generated by patients with a history of COVID-19 or by individuals previously immunised with the inactivated SARS-CoV-2 vaccine CoronaVac.[15]

Methods

Overview

We did an immunological study to assess the neutralising effects of antibodies on lineage P.1 and lineage B isolates of SARS-CoV-2, using plasma samples from patients previously infected with or vaccinated against SARS-CoV-2.

All procedures followed the ethical standards of the responsible committee on human experimentation and approved by the ethics committees from the University of Campinas (Campinas, Brazil; approval numbers CONEP 4.021.484 [for plasma collection of blood donors], and CAEE 32078620.4.0000.5404 and 30227920.9.0000.5404 [for the sampling of vaccinated and viral genome sequencing, respectively]). All patient data were anonymised before use

Research in context

Evidence before this study

The emergence of variants of concerns of SARS-CoV-2 with multiple mutations in the spike protein has caused concern about the potential for the virus to evade antibody responses elicited by previous SARS-CoV-2 infections or vaccinations. We searched PubMed without language restriction until May 5, 2021, for studies published with the terms "SARS-CoV-2 lineage P.1" or "escape neutralization" and "CoronaVac vaccine", and found evidence that P.1 can escape neutralisation by antibodies generated through natural SARS-CoV-2 infection or through vaccination with mRNA or adenoviral-vectored SARS-CoV-2 vaccines. However, most of these studies have used pseudoviruses or an infectious clone system with chimeric viruses. To our knowledge, there is scarce information about the ability of wild-type P.1 isolates of SARS-CoV-2, containing the complete set of signature mutations, to escape from neutralising antibodies present in individuals previously infected with SARS-CoV-2 or vaccinated with an inactivated vaccine.

Added value of this study

This study showed that antibodies present in the plasma of blood donors with a history of COVID-19 or individuals vaccinated with CoronaVac were less efficient at neutralising SARS-CoV-2 lineage P.1 isolates than a lineage B isolate.

Implications of all the available evidence

Neutralising antibodies are an important correlate of protection of the human immune response against SARS-CoV-2. Therefore, the capacity of the P.1 lineage to evade antibodies present in the plasma of naturally infected or CoronaVac-immunised individuals suggests that variants of concern might escape population immunity and continue to circulate in populations, even with high vaccination coverage with inactivated vaccines. Consequently, continued surveillance of neutralising antibody levels and genetic diversity of SARS-CoV-2 strains will be needed to monitor potential viral mutants with increased ability to escape immune responses in vaccinated individuals and to guide potential updates of national and international immunisation programmes.

in the study, and patients gave informed consent for inclusion in the study.

SARS-CoV-2 isolates

Samples of SARS-CoV-2 P.1 were obtained from residual nasopharyngeal lavage specimens from two patients with COVID-19, obtained from the Hematology and Hemotherapy Hospital Foundation of Amazonas (Fundação Hospitalar de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas, Manaus, Brazil). The samples were confirmed to be positive for SARS-CoV-2 infection by real-time quantitative RT-PCR (RT-qPCR) with cycle threshold (Ct) values of 22 and 17. All nasopharyngeal samples used in this study were collected from patients on Dec 21, 2020, and had been previously classified as being infected with SARS-CoV-2 of the P.1 lineage by viral genome sequencing.[14]

Nasopharyngeal lavage samples were inoculated into Vero cells (CCL-81; ATCC, Manassas, VA, USA) for virus isolation, using previously described methods.[16] Briefly, Vero cells were plated in a T25 cell culture flask at a concentration of 5×10^5 cells per mL with Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) containing 10% fetal bovine serum (FBS) and 1% penicillin-streptomycin solution (10 000 U/mL penicillin and 10 mg/mL streptomycin; Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA). Samples were thawed on ice, diluted 1:10 in DMEM, and centrifuged at $12\,000\times g$ for 5 min at 4°C. Samples were filtered with 0·22 µm syringe filters and incubated on ice for 1 h with penicillin-streptomycin solution and amphotericin B (250 µg/mL, 1:1; Sigma-Aldrich) in a final dilution of 1:10. After incubation at 37°C for 1 h for adsorption, the inoculum was removed from the culture and replaced with fresh culture medium. Cells were incubated at 37°C and observed for cytopathic effects daily, to 72 h. Subsequently, the cell culture supernatant was collected and viral replication was confirmed through RT-qPCR. Viral RNA was extracted from the supernatant cells with a Quick-RNA Viral Kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA) following the manufacturer-recommended procedures. RT-qPCR was used to confirm viral isolation through a decrease in the Ct value.[17] All experiments related to cell culture and viral replication were done in the biosafety level 3 laboratory of the University of Campinas Emerging Viruses Laboratory (Campinas, Brazil). We also sequenced SARS-CoV-2 genomes from two isolates using the ARTIC version 3 protocol with MinION sequencing (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK), as described elsewhere.[14]

For comparison, we also used a B lineage isolate (SARS.CoV2/SP02.2020, GenBank accession number MT126808) recovered from a sample collected on Feb 28, 2020, in Brazil.[18]

Immunofluorescent staining

Infection by isolates was confirmed by an immunofluorescent staining. Vero cells were plated onto silanised glass slides, fixed, and stained as previously described.[19] Briefly, after fixation with 4% paraformaldehyde, cells were washed with phosphate-buffered saline containing Tween 20 (0·1 M, pH 7·4), then incubated for 10 min with glycine (0·1 M) and treated for 30 min with 1% bovine serum albumin (BSA) solution (Sigma-Aldrich). Cells then were incubated overnight at 4°C with a recombinant human IgG1 antibody against SARS-CoV-2 spike protein S1 subunit RBD (clone HC2001, catalogue number A02038; GenScript, Piscataway, NJ, USA) or a rabbit IgG antibody against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (clone 001, catalogue number 40143-R001; Sino Biological, Wayne, PA, USA) diluted 1:100 in 1% BSA. The slides were washed and incubated for 2 h with secondary antibodies (Alexa Fluor 488-conjugated goat anti-human IgG, catalogue number A11013, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA; or Alexa Fluor 594-conjugated donkey anti-rabbit IgG, catalogue number A21207, Thermo Fisher Scientific) diluted 1:500 in 1% BSA. Cells then were washed and stained with 4′,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (DAPI; catalogue number SC3598, Santa Cruz Biotechnology, Dallas, TX, USA) for nuclear labelling and Alexa Fluor 647 phalloidin (catalogue number A22287, Thermo Fisher Scientific) to visualise F-actin. Microscopic images were acquired with a Zeiss LSM 880 with Airyscan on an Axio Observer 7 inverted microscope (Carl Zeiss, Jena, Germany) with a C Plan Apochromat 63×/1·4 oil differential interference contrast objective lens with 4× optical zoom. Before visual inspection of the images, raw .czi files were automatically processed into deconvoluted Airyscan images using Zen Black 2.3 software. DAPI staining was visualised with conventional confocal imaging using a 405 nm laser line for excitation and pinhole set to 1 Airy unit.

Plasma specimens

To evaluate the capacity of P.1 isolates to be neutralised by antibodies generated against other, previously circulating SARS-CoV-2 virus lineages, we collected plasma from 21 blood donors who had a history of SARS-CoV-2 infection confirmed by laboratory methods between May and August, 2020 (months before the first recorded infections associated with the P.1 lineage). These patients had donated blood to a plasmapheresis programme being run at the University of Campinas (Campinas, Brazil). Plasma samples were obtained using the Amicus automated blood cell separator (Fresenius Kabi, Bad Homburg, Germany) at the Hematology and Hemotherapy Center in the University of Campinas. Clinical data for these patients were obtained from electronic health records and included age, sex, method of SARS-CoV-2 diagnosis (eg, laboratory confirmed), duration of COVID-19 symptoms, time between COVID-19 symptom onset and sample collection, and whether hospitalisation was required during SARS-CoV-2 infection (appendix 2 p 8). As a

Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo, Brazil (F R Spilki PhD); **DB Diagnósticos do Brasil, São Paulo, Brazil** (N Gaburo PhD); **Departments of Medicine, Molecular Microbiology, Pathology, and Immunology, Washington University School of Medicine, St Louis, MO, USA** (Prof M S Diamond PhD); **Medical Research Council Centre for Global Infectious Disease Analysis, Abdul Latif Jameel Institute for Disease and Emergency Analytics, Imperial College London, London, UK** (N R Faria); **Biodiversity Research Centre, Federal University of Roraima, Boa Vista, Brazil** (F Granja)

Correspondence to:
Dr Jose Luiz Proença-Módena, Department of Genetics, Microbiology and Immunology, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil
jlmodena@unicamp.br

For more on the **ARTIC protocol** see https://artic.network/ncov-2019

See Online for appendix 2

negative control, we also obtained plasma from a person who had not been previously infected with SARS-CoV-2.

Plasma samples from vaccinated individuals were acquired from 15 participants in the Sinovac phase 3 trial (NCT04456595), and from 18 individuals who received a single dose and 38 who received two doses of CoronaVac during the Brazilian vaccination programme against SARS-CoV-2. Samples were collected by venipuncture at the Clinical Hospital of the University of Campinas (Campinas, Brazil). The clinical trial was done in Brazil following the Declaration of Helsinki and Good Clinical Practice Guidelines and with approval by the Brazilian Health Regulatory Agency. Full information was collected for each individual and included age, sex, and dates of first and second vaccine doses (appendix 2 pp 9–11).

IgM and IgG antibodies against SARS-CoV-2 spike and nucleocapsid proteins in the plasma samples were measured with Abbott SARS-CoV-2 chemiluminescence microparticle immunoassays (catalogue numbers 6R87 and 6R86, Abbott, Chicago, IL, USA) using the Architect instrument, in accordance with the manufacturer's instructions.

SARS-CoV-2 neutralisation tests

SARS-CoV-2 neutralisation tests were done as previously described.[20] In brief, plasma samples from previously infected and vaccinated participants were inactivated at 56°C for 30 min. 100 µL aliquots of two-fold serial dilutions (final dilution range 1:20 to 1:2560) of heat-inactivated plasma were then incubated for 1 h at 37°C with 100 µL of solution containing 10^3 plaque-forming units (PFU) per mL of SARS-CoV-2 lineage P.1 (isolates P.1/28 and P.1/30) or lineage B (isolate SARS.CoV2/SP02.2020).[18] After incubation, 120 µL solution was transferred to 5×10^3 Vero cell monolayers (multiplicity of infection 0·01) for 1 h at 37°C with 5% CO_2. After virus removal, cells were incubated for 72 h with DMEM containing 10% FBS. The median virus neutralisation titre (VNT_{50}) for a plasma sample was defined as the reciprocal value of the sample dilution that showed 50% protection against cytopathic effects based on the number of wells in which cytopathic effects were observed, similar to a median tissue culture infectious dose analysis (appendix 2 p 2). Each plasma sample was tested in duplicate using two independent assays.

For the **GISAID website** see https://www.gisaid.org/

Plaque reduction neutralisation test

An in-house plaque reduction neutralisation test (PRNT) was done as previously described.[16] Serial dilutions of each serum sample from both previously infected and vaccinated participants were incubated with a solution containing 2×10^3 PFU/mL of SARS-CoV-2 lineages P.1 or B for 1h at 37°C. The virus–serum mixtures were added to pre-formed Vero cell monolayers and incubated for 1h at 37°C in 5% CO_2. Subsequently, 1 mL of DMEM containing 1% carboxymethylcelluloses and 5% FBS was gently added to each well, and the plates were incubated at 37°C in a 5% CO_2 atmosphere for 3 days. Finally, cells were fixed with 2 mL of 8% formaldehyde solution overnight and stained with 1% methylene blue (Sigma-Aldrich) for 5 min. Plaque reduction was calculated for each plasma sample-containing well relative to the number of plaques in wells inoculated with SARS-CoV-2 alone (positive control; appendix 2 p 2). $PRNT_{50}$ was defined as the sample dilution that showed a 50% reduction in number of plaques formed compared with that in the positive control well.

Statistical analysis

To assess whether plasma VNT_{50}s against isolates of SARS-CoV-2 lineage P.1 were reduced compared with those against SARS-CoV-2 lineage B in individuals with a history of SARS-CoV-2 infection, we used a binomial distribution model based on the proportion of samples in each of two categories (differences >0 and differences ≤0). The analysis was done in R Studio version 1.3.1073. The statistical method is described in appendix 2 (p 1).

For analysis of differences in plasma neutralising antibody titres, median PRNT ($PRNT_{50}$) for each sample was calculated as a mean of two technical duplicates, and statistical significance of the differences between group medians was determined by one-way ANOVA followed by Tukey's test of non-linear regression curves using GraphPad Prism software (version 8.2.1).

Role of the funding source

The funders of the study had no role in study design, data collection, data analysis, data interpretation, or writing of the report. All authors had full access to all the data in the study and had final responsibility for the decision to submit for publication.

Results

The two SARS-CoV-2 isolates obtained from naso-pharyngeal samples (P.1/28 and P.1/30) were confirmed as belonging to the P.1 lineage by genome sequencing. We obtained near-complete sequences, with genome coverage of 83·7% for isolate P.1/28 and 99·6% for isolate P.1/30. We confirmed all signature mutations of the P.1 lineage on isolate P.1/30, and 13 of 15 amino acid signature mutations[3] in isolate P.1/28 (appendix 2 p 12). The sequences were deposited in GISAID (EPI_ISL_1708317 and EPI_ISL_1708318). The full mutation set of the P.1 signature mutations in the original samples was previously confirmed.[14] Cytopathic effects in a Vero cell monolayer were observed 3 days post-inoculation and cell culture supernatant was harvested 4 days post-inoculation (appendix 2 p 3). Viral titres were $7\cdot2\times10^4$ for P.1/28 and $1\cdot2\times10^5$ PFU/mL for P.1/30. The presence of SARS-CoV-2 RNA was confirmed using RT-qPCR targeting the envelope gene (appendix 2 p 3). The immunofluorescence assay using commercial monoclonal antibodies against SARS-CoV-2 spike protein subunit S1 RDB and nucleocapsid protein showed robust binding to

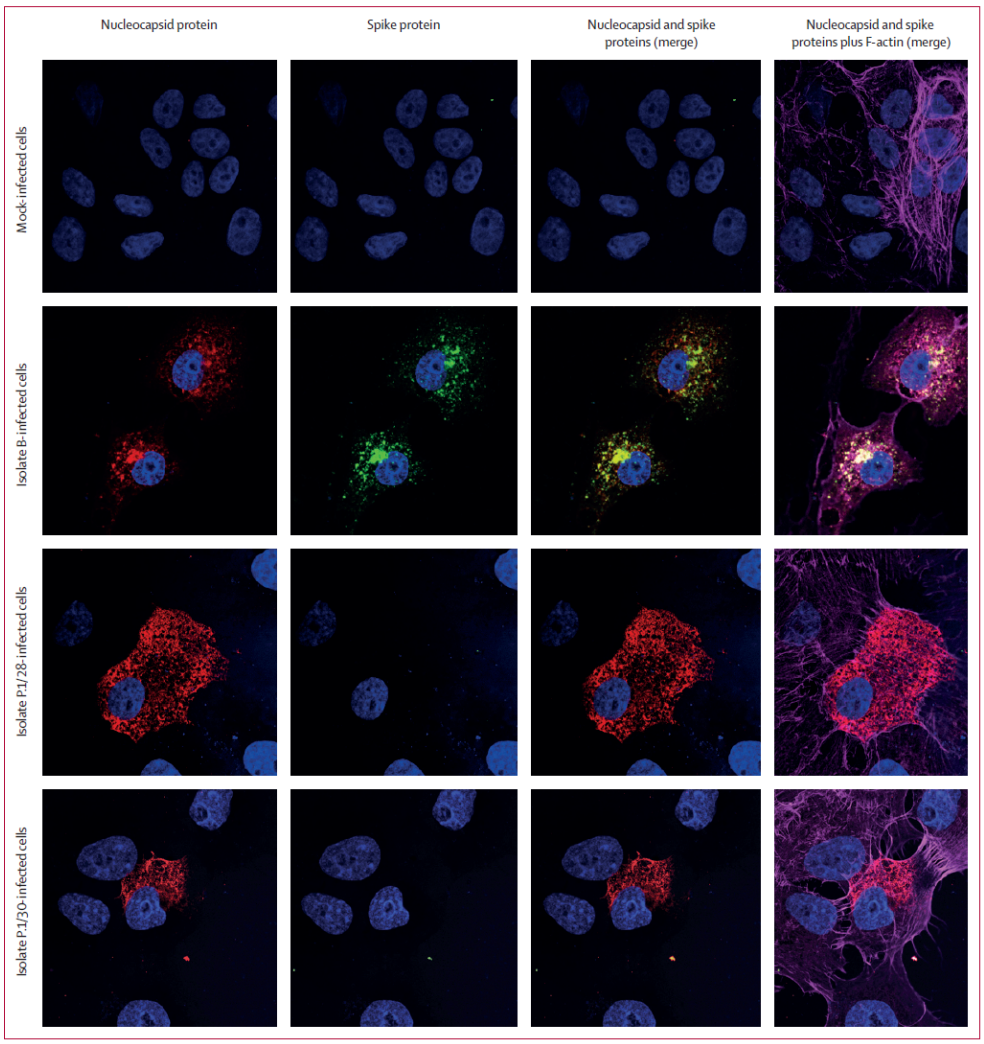


Figure 1: **Immunofluorescent staining with commercial antibodies against SARS-CoV-2 proteins**
Images show staining of mock-infected Vero cells and of Vero cells inoculated with a SARS-CoV-2 lineage B isolate or a SARS-CoV-2 lineage P.1 isolate (P.1/28 or P.1/30). Cells were stained with antibodies against SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (red fluorescence, columns 1, 3, and 4) and spike protein (green fluorescence, columns 2–4) and phalloidin for visualisation of F-actin filaments (pink fluorescence, column 4). Nuclei were labelled with 4′,6-diamidino-2-phenylindole dihydrochloride (blue fluorescence). Slides were analysed by confocal microscopy and images were merged with ImageJ.

the nucleocapsid protein but reduced binding to the spike protein in SARS-CoV-2 lineage P.1-infected Vero cells compared with binding in cells infected with the lineage B isolate (figure 1).

Plasma samples were collected from 21 blood donors (nine [43%] men and 12 [57%] women; median age 34 years [IQR 31–43]) with a history of laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection. The median time between onset of symptoms and blood sample collection was 65 days (45–69), and all samples had high concentrations of SARS-CoV-2-specific IgM or IgG antibodies (appendix 2 p 8). The negative control sample, obtained from a person who had not previously been infected with SARS-CoV-2, had undetectable levels of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies. We tested these plasma samples for neutralisation of the isolates P.1/28 and P.1/30 and a Brazilian SARS-CoV-2 lineage B reference isolate (SARS.CoV-2/SP02.2020) on

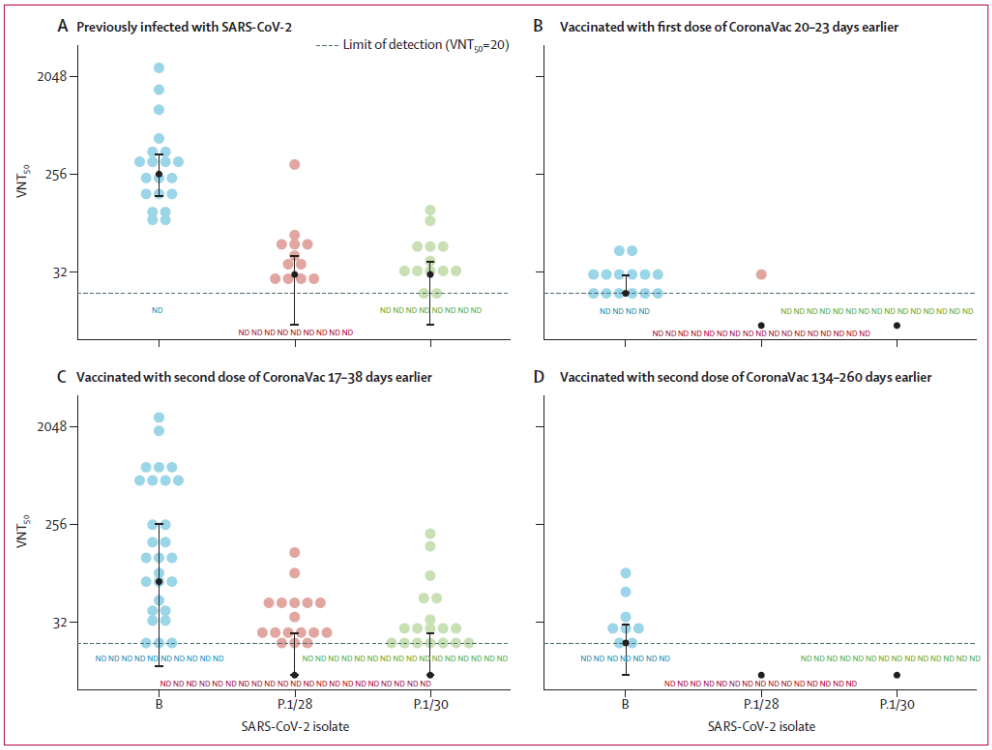


Figure 2: **Neutralisation of SARS-CoV-2 lineages B and P.1 by plasma from previously infected or vaccinated individuals, according to VNT_{50}**
Plasma samples were incubated with Vero cells infected with a SARS-CoV-2 lineage B isolate (SARS.CoV2/SP02.2020) or one of two lineage P.1 isolates (P.1/28 and P.1/30) to assess VNT_{50} (defined as the reciprocal value of the plasma sample dilution that showed 50% protection against cytopathic effects). (A) Plasma from blood donors previously infected with SARS-CoV-2 (n=21). (B) Plasma from individuals vaccinated with a single dose of CoronaVac vaccine during the Brazilian vaccination programme (n=18), collected at a median 21 days (IQR 21–21; range 20–23) after receipt of the first dose. (C) Plasma from individuals vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine during the Brazilian vaccination programme (n=38), collected at a median 21 days (IQR 20–23; range 17–38) after receipt of the second dose. (D) Plasma from individuals vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine in the Sinovac phase 3 trial (n=15), collected at a median 158 days (IQR 156–170; range 134–260) after receipt of the second dose. Dashed lines indicate the lower LOD of the VNT_{50} assay for samples with low or absent virus neutralisation capacity. Black circles indicate group medians for each isolate, with bars showing IQRs. Each data point is the average of a duplicate assay for each plasma sample, and two independent assays were done for all groups (except the group of participants who received a single dose of vaccine, panel B). LOD=limit of detection (VNT_{50} titre <20). ND=not detected (below LOD). VNT_{50}=median virus neutralisation titre.

the basis of VNT_{50}. A binominal model showed that VNT_{50}s of plasma from previously SARS-CoV-2-infected patients against the lineage P.1 isolates were significantly reduced compared with those against the lineage B isolate ($p \leq 0 \cdot 0001$; figure 2A). Plasma from previously SARS-CoV-2-infected individuals had median VNT_{50}s of 30 for isolate P.1/28 (IQR <20–45) and 30 for isolate P.1/30 (<20–40), compared with a VNT_{50} of 260 (160–400) for the B lineage isolate, indicating that the capacity of neutralisation antibodies was around 8·6 times lower for P.1 lineage isolates compared with the B lineage isolate (figure 2A; appendix 2 p 8). Additionally, higher paired differences in VNT_{50}s between P.1/28 and B lineage isolates corresponded to higher paired differences (data not shown) between P.1/30 and B lineage isolates (Pearson's correlation 0·997), indicating consistency between results for both isolates of P.1.

To investigate whether the P.1 lineage might also escape neutralisation by antibodies induced by the CoronaVac vaccine, a set of plasma samples was obtained from 18 individuals (six [33%] men and 12 [67%] women; median age 29 years [IQR 26–36]) who had received a first dose of the vaccine 20–23 days earlier (median 21 days [21–21]), and from an additional 20 individuals (38 in total; ten [26%] men and 28 [74%] women; 30 years [26–40]) who had received a second dose of vaccine 17–38 days earlier (median 21 days [20–23]; appendix 2 pp 9–10). The median VNT_{50} of plasma samples from participants after a single dose of CoronaVac was 20 (IQR 20–30) against the lineage B isolate, and almost all plasma samples against both P.1 isolates had VNT_{50}s

below the limit of detection (<20; figure 2B; appendix 2 pp 9–10). The median VNT_{50}s of plasma samples from individuals who had received two doses of CoronaVac were 75 (<20–263) against the lineage B isolate, 24 (<20–25) against isolate P.1/28, and 28 (<20–25) against isolate P.1/30 (figure 2C; appendix 2 pp 9–10), showing significant reductions with both lineage P.1 isolates compared with the lineage B isolate (p=0·0051 for P.1/28 and p=0·0336 for P.1/30).

Subsequently, we evaluated a set of plasma samples from 15 participants who had received the vaccine, not placebo, in the previously reported Sinovac phase 3 trial in Brazil in August, 2020. CoronaVac-immunised individuals (five [33%] men and ten [67%] women; median age 34 years [32–39]) had received their CoronaVac booster vaccination 134–260 days before sample collection (median 158 days [156–170]). These individuals had antibody titres (measured as relative binding signals, compared with the cutoff value of each assay) between 0·03 and 1·09 for IgM and between 0·06 and 0·38 for IgG antibodies (appendix 2 p 11). Plasma samples from all trial participants had VNT_{50}s below the limit of detection against both P.1 isolates, and a median VNT_{50} of 20 (<20–30) against the lineage B isolate (figure 2D; appendix 2 p 11). Because these neutralisation titres were near or below the limit of detection, statistical significance could not be reached in the comparison of the lineage B isolate with the P.1 isolates (figure 2B, D).

Plasma samples from previously SARS-CoV-2-infected individuals and CoronaVac-vaccinated individuals (including those who had received one or two doses in the Brazilian vaccination programme and those who received two doses in the Sinovac trial) were tested by PRNT against both P.1 isolates and the B isolate. Plasma samples from previously infected individuals had $PRNT_{50}$ values of 1:25 against P.1/28 and 1:23 against P.1/30, whereas the $PRNT_{50}$ against the lineage B isolate more than 1:640—a neutralising antibody capacity more than 25 times higher (p<0·0001; figure 3A). In plasma samples from individuals who had received a first dose of CoronaVac 20–23 days earlier or a second dose of CoronaVac 134–260 days earlier, we found no detectable neutralising activity against the P.1 isolates (limit of detection 1:20), whereas the $PRNT_{50}$ value against the B isolate was around 1:20 (figure 3B, D). By comparison, plasma collected 17–38 days after a second dose of CoronaVac (in those participants immunised in the national vaccination programme) had a $PRNT_{50}$ value around 1:80 for B lineage and less than 1:20 for both P.1 lineage isolates, indicating a neutralising antibody capacity of around a quarter against P.1 isolates compared with those against the lineage B isolate (p=0·0033; figure 3C).

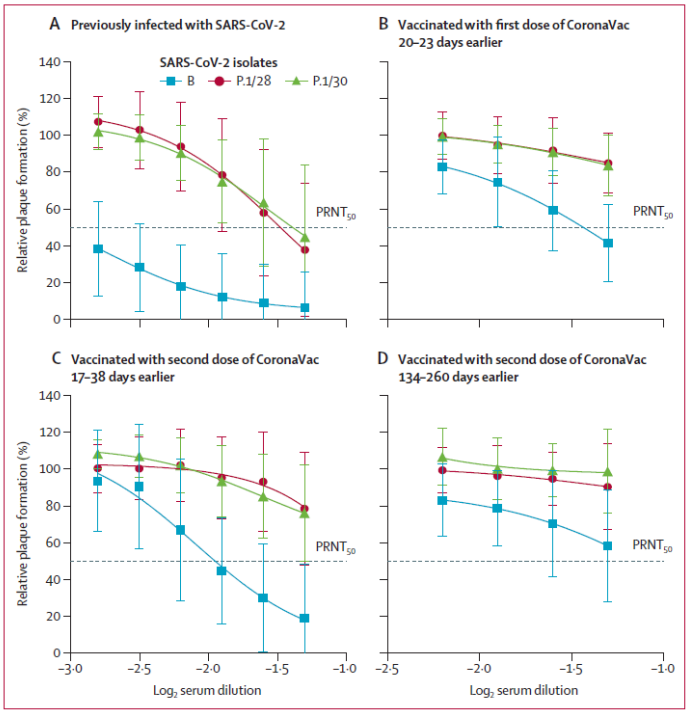


Figure 3: **Neutralisation of SARS-CoV-2 lineages B and P.1 by plasma from previously infected or vaccinated individuals, according to $PRNT_{50}$**

Plasma samples were tested by PRNT in Vero cells after incubation with 100 plaque-forming units of different isolates of SARS-CoV-2 (B and two isolates of P.1 lineages). $PRNT_{50}$ represents the sample dilution that showed a 50% reduction in plaque formation compared with a control well inoculated with SARS-CoV-2 alone (without plasma), after linear regression analysis. Each data point represents the mean of all plasma samples for each group at each dilution level (shown as log_2 serum dilution) and error bars represent SD. (A) Plasma from blood donors previously infected with SARS-CoV-2 (n=21). (B) Plasma from individuals vaccinated with a single dose of CoronaVac vaccine during the Brazilian vaccination programme (n=18), collected at a median 21 days (IQR 21–21; range 20–23) after receipt of the first dose. (C) Plasma from individuals vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine during the Brazilian vaccination programme (n=38), collected at a median 21 days (IQR 20–23; range 17–38) after receipt of the second dose. (D) Plasma from individuals vaccinated with two doses of CoronaVac vaccine in the Sinovac phase 3 trial (n=15), collected at a median 158 days (IQR 156–170; range 134–260) after receipt of the second dose. All PRNT curves for each sample used in the study are shown in appendix 2 (pp 4–7). PRNT=plaque reduction neutralisation test.

Discussion

Our data suggest that P.1 lineage SARS-CoV-2 can escape from neutralising antibody responses generated by previous SARS-CoV-2 infection and, thus, that reinfection might be possible with antigenically distinct variants with mutations in spike protein. Reinfection with P.1 lineage SARS-CoV-2 has been detected in Manaus,[21] where high seroprevalence rates have previously been observed.[22] Previous studies using serum or plasma from people with a history of COVID-19 have shown neutralising titres between 2·2 and 13·3 times lower against isolates of wild-type virus or pseudoviruses featuring the B.1.1.7, B.1.351, and P.1 constellations of spike protein mutations, compared with other lineages not containing these mutations.[12,13]

The neutralisation potencies of plasma samples from individuals vaccinated with the BNT162b2, mRNA-1273, and ChAdOx1 nCoV-19 vaccines were up to 13·3 times lower (but remained neutralising) against the wild-type P.1

isolate[12] and SARS-CoV-2 pseudoviruses containing spike protein mutations (Glu484Lys, Lys417Thr, and Asn501Tyr) present in the B.1.1.7, B.1.351, and P.1 lineages, in comparison with their neutralisation ability against lineages not containing those mutation.[11,23] To date, the CoronaVac vaccine has been approved for emergency use in Brazil, China, Colombia, Indonesia, Mexico, and Turkey, and was shown to be well tolerated and to induce humoral responses against SARS-CoV-2 in phase 1/2 and phase 3 clinical trials.[15,24] Additionally, its efficacy against symptomatic COVID-19 was estimated to be 50·7%.[25] In Brazil, where the P.1 lineage first emerged,[14] CoronaVac has been the main vaccine used in the national immunisation programme against SARS-CoV-2, accounting for around 41 million (76%) of the total 53 million doses administered in the country. Our data show that plasma collected 20–23 days after a first dose of CoronaVac or 134–260 days after a second dose had low levels of neutralising antibodies against the SARS-CoV-2 B lineage, and many of these samples showed no inhibitory activity against two wild-type P.1 isolates at the limit of detection of the VNT or PRNT assays. The low levels of neutralising antibodies induced by this vaccine are consistent with the phase 1/2 and phase 3 trial data.[15,24] By contrast, neutralising titres in individuals who had received two doses of CoronaVac 21 days before sample collection was near 1:80 for B.1 and 1:20 for P.1 isolates. Collectively, the data suggest that P.1 lineage virus might escape from neutralising antibodies induced by an inactivated SARS-CoV-2 vaccine, especially at 5 months after vaccination as immunity wanes.

Human influenza virus vaccines are typically updated when a more than four times reduction of neutralising activity (based on haemagglutination-inhibition titres) is detected against the new strains of the virus versus the previously circulating strains.[26] Our results showed that neutralising capacity of plasma from patients previously infected with SARS-CoV-2 was at least 8·6 times lower against two isolates of lineage P.1 than against a lineage B isolate recovered from a virus previously circulating in Brazil in late February, 2020.[18] Sera from individuals infected with common cold coronavirus HCoV-229E in the 1980s and 1990s had a neutralising antibody capacity at least four times lower than those against contemporary HCoV-229E strains,[27] an observation that is comparable to the differences we observed in neutralising activity between the B and P.1 SARS-CoV-2 strains. Another study has shown that SARS-CoV-2 antibody levels start decreasing within 5 months after initial infection,[28] similar to our findings in the plasma of CoronaVac-immunised individuals. Monitoring the reduction of neutralisation activity of vaccinated individuals over time and boosting immunity with updated vaccine versions might be required to halt transmission of new variants.

Lower neutralising capacity of SARS-CoV-2 antibodies and partial immunity against new variants could suggest that reinfection might occur in convalescent or even vaccinated individuals. Additionally, the delayed production of neutralising antibodies has been associated with impaired viral control and fatal COVID-19.[29] However, a phase 3 clinical trial showed that CoronaVac can protect against severe COVID-19 and death.[25] Therefore, neutralising antibodies might not be the only contributing factor, and memory T cell or B cell responses might reduce disease severity. Further clinical and epidemiological studies are needed to clarify how previous exposure through natural infection and vaccination could protect against reinfection and primary infection with existing and newly emerging variants of concern.

In conclusion, our exploratory data suggest that SARS-CoV-2 lineage P.1 can escape from neutralising antibodies elicited during infection or immunisation with previously circulating viral variants. Continued and enhanced genetic surveillance of SARS-CoV-2 variants worldwide, paired with plasma neutralising antibody assays, could help to guide updates of immunisation programmes.

Contributors

WMS, MRA, RS-C, ECS, FG, NRF, and JLP-M conceptualised the study. WMS, MRA, RS-C, LDC, DAT-T, SPM, GFdS, PLP, PPB, KB-d-S, LSM, CLS, NSB, IMC, ASSD, TMC, ABZ, CC-L, ABSPG, LIB, FCS, VAC, LAMF, DSC, JGdJ, CAMS, MSR, GMF, MCP, LMS, ECR, PSA, MAEC, GCM, ERM, MNNS, CCC, RNA, CWA, NG, MLM, HM-S, FG, and JLP-M contributed to acquisition of data. WMS, MRA, RS-C, DAT-T, LSM, ECS, FG, and JLP-M contributed to data analysis. WMS, MRA, RS-C, LDC, DAT-T, LMS, NRF, ECS, FG, OGP, CD, and JLP-M contributed to data interpretation. WMS, RS-C, and JLP-M drafted the manuscript. WMS, RS-C, MRA, RNA, MLM, OGP, CD, MA-C, BDB, MARV, MASM, HM-S, REM, ASF, ECS, FG, NRF, MSD, and JLP-M revised the manuscript. WMS, FRS, MASM, REM, ASF, NRF, ECS, NRD, and JLP-M acquired funding for the study. All authors read and approved the final version of the manuscript and had access to all the data in the study. WMS, RS-C, and JLP-M accessed and verified the data underlying the study.

Declaration of interests

MSD is a consultant for Inbios, Vir Biotechnology, NGM Biopharmaceuticals, and Carnival Corporation, and on the Scientific Advisory Boards of Moderna and Immunome. MSD is the principal investigator of a laboratory that has received funding support in sponsored research agreements from Moderna, Vir Biotechnology, and Emergent BioSolutions.

Data sharing

All metadata generated in this analysis are available in appendix 2.

Acknowledgments

This study was supported by grants from the São Paulo Research Foundation (FAPESP; 2016/00194-8 and 2020/04558-0) and Fundo de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão (FAEPEX) of UNICAMP (2266/20); by the Brazilian Ministry of Science, Technology, and Innovation (MCTI) through the Rede Corona-ômica Br-MCTI/Financier of Studies and Projects (01.20.0003.00 to REM, affiliated to RedeVirus/MCTI [01.20.0029.000462/20 and 404096/2020-4]); and by the UK Medical Research Council and FAPESP–Brazil–UK Centre for (Arbo)virus Discovery, Diagnosis, Genomics and Epidemiology partnership award (MR/S0195/1 and FAPESP 2018/14389-0). WMS is supported by FAPESP (2017/13981-0 and 2019/24251-9) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq; 408338/2018-0). HM-S is supported by FAEPEX (2005/20, 2319/20, and 2432/20). SPM is supported by FAPESP (#18/13645-3). GFdS is supported by FAPESP (#18/10224-7). NRF is supported by a Wellcome Trust and Royal Society Sir Henry Dale Fellowship (204311/Z/16/Z). BDB is supported by CNPq (401977/2020).

KB-d-S, CLS, and PLP were supported by FAPESP fellowships (2020/02159-0, 2020/02448-2, and 2017/26908-0). MRA and PPB were supported by Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (88887.356527/2019-00) fellowships, and DAT-T and LSM were supported by CNPq fellowships (141844/2019-1 and 382206/2020-7). MSD was supported by a grant from the National Institutes of Health (U01 grant AI151810). We thank Wendy Barclay for helpful discussions; all blood donors, vaccinated individuals, and SARS-CoV-2 patients who provided clinical specimens for this study; Thermo Fisher Scientific for provision of an EVOS inverted microscope for the biosafety level 3 facility at the Emerging Viruses Laboratory; the National Institute of Science and Technology of Photonics Applied to Cell Biology for confocal microscopy analysis; UNICAMP-Task-Force against COVID-19, which facilitated this study; Elzira E Saviani for technical support; all individuals involved in the diagnosis and generation of SARS-CoV-2 sequences as part of the CADDE-Genomic-Network; and the MCTI and all members of the Corona-ômica network for support.

References

1 Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. *Nature* 2020; 579: 265–69.
2 WHO. WHO coronavirus (COVID-19) dashboard. https://covid19.who.int2021 (accessed May 5, 2021).
3 Rambaut A, Holmes EC, O'Toole Á, et al. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat Microbiol* 2020; 5: 1403–07.
4 Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, et al. SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science* 2020; 370: 1464–68.
5 Chi X, Yan R, Zhang J, et al. A neutralizing human antibody binds to the N-terminal domain of the spike protein of SARS-CoV-2. *Science* 2020; 369: 650–55.
6 Piccoli L, Park YJ, Tortorici MA, et al. Mapping neutralizing and immunodominant sites on the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain by structure-guided high-resolution serology. *Cell* 2020; 183: 1024–42.e21.
7 Thomson EC, Rosen LE, Shepherd JG, et al. Circulating SARS-CoV-2 spike N439K variants maintain fitness while evading antibody-mediated immunity. *Cell* 2021; 184: 1171–87.e20.
8 Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature* 2021; 592: 616–22.
9 Tegally H, Wilkinson E, Giovanetti M, et al. Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. *Nature* 2021; 592: 438–43.
10 Davies NG, Abbott S, Barnard RC, et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science* 2021; 372: eabg3055.
11 Garcia-Beltran WF, Lam EC, St Denis K, et al. Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. *Cell* 2021; 184: 2372–83.e9.
12 Dejnirattisai W, Zhou D, Supasa P, et al. Antibody evasion by the P.1 strain of SARS-CoV-2. *Cell* 2021; published online March 30. https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.03.055.
13 Chen RE, Zhang X, Case JB, et al. Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat Med* 2021; 27: 717–26.
14 Faria NR, Mellan TA, Whittaker C, et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science* 2021; 372: 815–21.
15 Zhang Y, Zeng G, Pan H, et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18-59 years: a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect Dis* 2021; 21: 181–92.
16 Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* 2020; 581: 465–69.
17 Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25: 2000045.
18 Davanzo GG, Codo AC, Brunetti NS, et al. SARS-CoV-2 uses CD4 to infect T helper lymphocytes. *medRxiv* 2020; published online Sept 28. https://doi.org/10.1101/2020.09.25.20200329 (preprint).
19 Perera RA, Mok CK, Tsang OT, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Euro Surveill* 2020; 25: 2000421.
20 Araujo DB, Machado RRG, Amgarten DE, et al. SARS-CoV-2 isolation from the first reported patients in Brazil and establishment of a coordinated task network. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2020; 115: e200342.
21 Naveca F, da Costa C, Nascimento V, et al. SARS-CoV-2 reinfection by the new variant of concern (VOC) P.1 in Amazonas, Brazil. https://virological.org/t/sars-cov-2-reinfection-by-the-new-variant-of-concern-voc-p-1-in-amazonas-brazil/596 (accessed May 5, 2021).
22 Buss LF, Prete CA Jr, Abrahim CMM, et al. Three-quarters attack rate of SARS-CoV-2 in the Brazilian Amazon during a largely unmitigated epidemic. *Science* 2021; 371: 288–92.
23 Hoffmann M, Arora P, Groß R, et al. SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies. *Cell* 2021; 184: 2384–93.e12.
24 Bueno SM, Abarca K, González PA, et al. Interim report: safety and immunogenicity of an inactivated vaccine against SARS-CoV-2 in healthy Chilean adults in a phase 3 clinical trial. *medRxiv* 2021: published online April 1. https://doi.org/10.1101/2021.03.31.21254494 (preprint).
25 Palacios R, Batista AP, Albuquerque CSN, et al. Efficacy and safety of a COVID-19 inactivated vaccine in healthcare professionals in Brazil: the PROFISCOV study. *SSRN* 2021; published online April 14. https://doi.org/10.2139/ssrn.3822780 (preprint).
26 Smith DJ, Lapedes AS, de Jong JC, et al. Mapping the antigenic and genetic evolution of influenza virus. *Science* 2004; 305: 371–76.
27 Eguia RT, Crawford KHD, Stevens-Ayers T, et al. A human coronavirus evolves antigenically to escape antibody immunity. *PLoS Pathog* 2021; 17: e1009453.
28 Röltgen K, Powell AE, Wirz OF, et al. Defining the features and duration of antibody responses to SARS-CoV-2 infection associated with disease severity and outcome. *Sci Immunol* 2020; 5: eabe0240.
29 Lucas C, Klein J, Sundaram ME, et al. Delayed production of neutralizing antibodies correlates with fatal COVID-19. *Nat Med* 2021; published online May 5. https://doi.org/10.1038/s41591-021-01355-0.

Material Suplementar - Artigo 3

THE LANCET
Microbe

Supplementary appendix 1

This translation in Portuguese was submitted by the authors and we reproduce it as supplied. It has not been peer reviewed. The Lancet's editorial processes have only been applied to the original in English, which should serve as reference for this manuscript.

Supplement to: Souza WM, Amorim MR, Sesti-Costa R, et al. Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study. *Lancet Microbe* 2021; published online July 8. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00129-4.

Esta tradução em português foi submetida pelos autores e nós não fizemos quaisquer alterações. Esta versão não foi revista por pares. O processo editorial do The Lancet só foi aplicado à versão original em inglês, que deve servir como referência para este artigo.

Níveis de neutralização da linhagem P.1 de SARS-CoV-2 por anticorpos produzidos após infecção natural e vacinação: um estudo imunológico

Resumo

Introdução: Uma nova linhagem de SARS-CoV-2, chamada P.1 (20J/501Y.V3), foi recentemente detectada no Brasil. Dentre as mutações presentes na linhagem P.1, estão incluídas mudanças de aminoácidos no domínio de ligação ao receptor da proteína da espícula que são relatadas em outras variantes de preocupação, como a B.1.1.7 e a B.1.351. Esse estudo teve como objetivo investigar se isolados selvagens do novo variante P.1 podem escapar de anticorpos neutralizantes gerados por uma resposta imune policlonal.

Métodos: Nós conduzimos um estudo imunológico para determinar o efeito neutralizante de anticorpos contra isolados da linhagem P.1 e B de SARS-CoV-2, usando plasma de pacientes previamente infectados ou vacinados contra SARS-CoV-2. Dois espécimes da linhagem P.1 foram isolados de lavado de nasofaringe e aspirado brônquico-alveolar de pacientes de Manaus, Brasil. A neutralização do vírus P.1 foi mensurada após incubação com plasma de 21 doadores de sangue na fase de convalescência de COVID-19 e um total de 53 pessoas que receberam a vacina quimicamente inativada CoronaVac. Foram incluídas amostras de plasma de 18 indivíduos que receberam uma única dose e 38 indivíduos que receberam as duas doses da vacina, todos coletados entre 17 e 38 dias após imunização. Também foram incluídas amostras de plasma de 15 indivíduos que receberam duas doses da vacina entre 134-260 dias antes da coleta. Os resultados de neutralização para P.1 foram comparados com os resultados obtidos para um isolado da linhagem B, que circulou no começo da pandemia no Brasil, analisando a mediana do título neutralizante viral (VNT_{50}- definido como o valor de diluição da amostra que conferiu 50% de proteção contra a presença de efeito citopático).

Resultados: O ensaio de VNT_{50} revelou que o plasma de pacientes convalescentes da COVID-19 possui uma capacidade neutralizante 8,6 vezes menor para os isolados P.1 (mediana de VNT_{50} igual a 30 [IQR <20-45] para P.1/28 e 30 [<20-40] para P.1/30) do que para a linhagem B (260 [160-400]), com um modelo binomial mostrando redução significativa entre as linhagens P.1 e B com $p < 0,0001$. O plasma de indivíduos coletados 20-23 dias após uma dose (VNT_{50} abaixo do limite de detecção [<20] para a maioria dos plasmas) ou 17-38 dias após duas doses da CoronaVac (VNT_{50} de 24 [IQR <20-25 para P.1/28 e P.1/30], assim como o plasma coletado 134-260 dias após imunização (VNT_{50} abaixo do limite de detecção [<20] para todas as amostras), falharam em neutralizar eficientemente os isolados da linhagem P.1. A mediana do VNT_{50} contra a linhagem B foi 20 (IQR 20-30) após 20-23 dias da primeira dose da CoronaVac; 75 (<20-263) após 17-38 dias da segunda dose; e 20 (<20-30) após 134-260 dias da segunda dose. A capacidade neutralizante do plasma coletado 17-34 dias após a segunda dose da vacina contra os isolados da linhagem P.1 foi significativamente reduzida ($p=0,0051$ para P.1/28 e $p=0,0336$ para P.1/30) comparado com a capacidade de neutralizar a linhagem B. Todos os dados foram confirmados pelo método de $PRNT_{50}$ (teste de neutralização por redução da formação de placas de lise).

Interpretação: Esses dados indicam que a linhagem P.1 pode escapar da neutralização por parte dos anticorpos gerados em resposta a um estímulo policlonal induzido por variantes de SARS-CoV-2 que circulavam no início da pandemia. Desse modo, a vigilância genômica de SARS-CoV-2, e a realização combinada de ensaios de neutralização podem ajudar a guiar os programas nacionais de vacinação.

Financiamento: Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de São Paulo, Ministério de Ciência e Tecnologia do Brasil, Financiadora de Estudos e Projeto, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, Fundo de apoio ao ensino, pesquisa e extensão da Unicamp, Medical Research Council, National Council for Scientific and Technological Development, National Institutes of Health.

THE LANCET
Microbe

Supplementary appendix 2

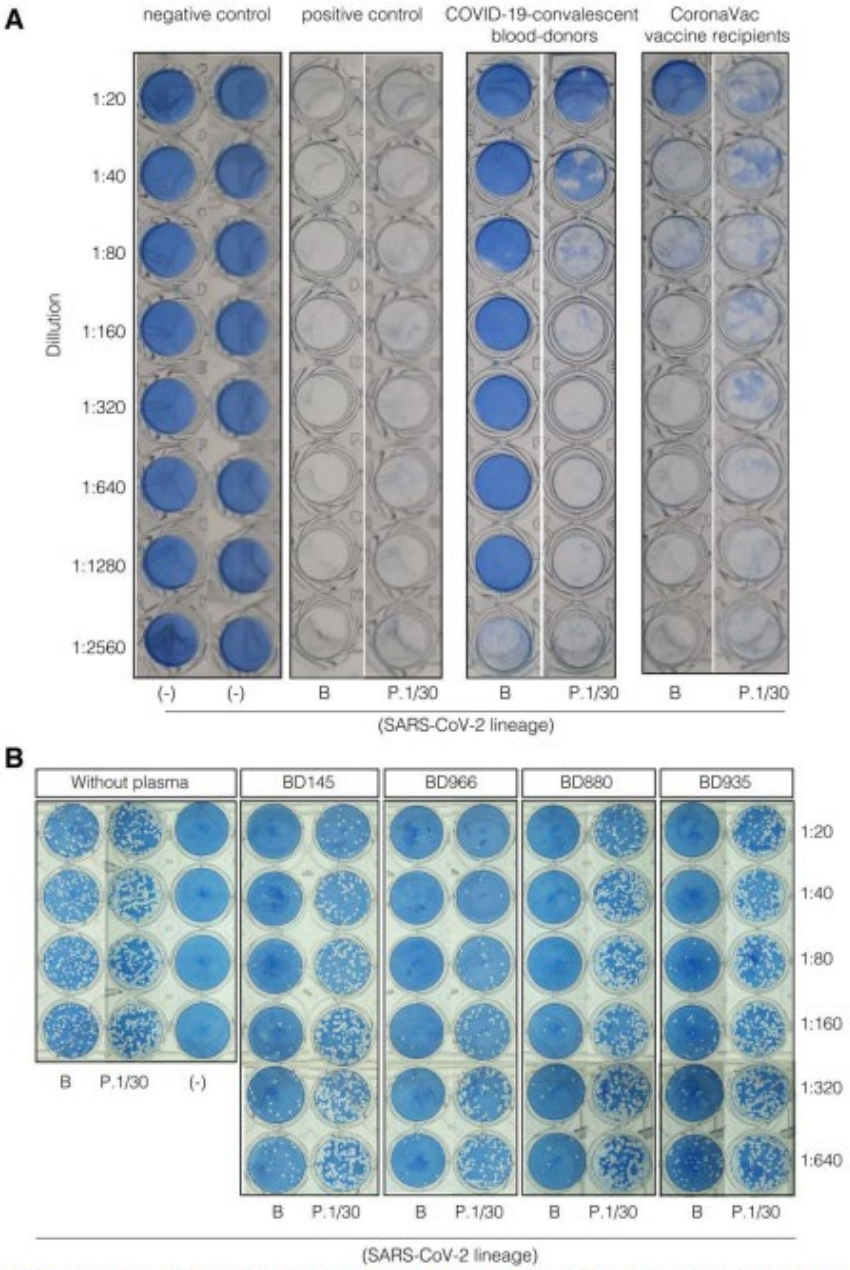
This appendix formed part of the original submission and has been peer reviewed. We post it as supplied by the authors.

Supplement to: Souza WM, Amorim MR, Sesti-Costa R, et al. Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study. *Lancet Microbe* 2021; published online July 8. https://doi.org/10.1016/S2666-5247(21)00129-4.

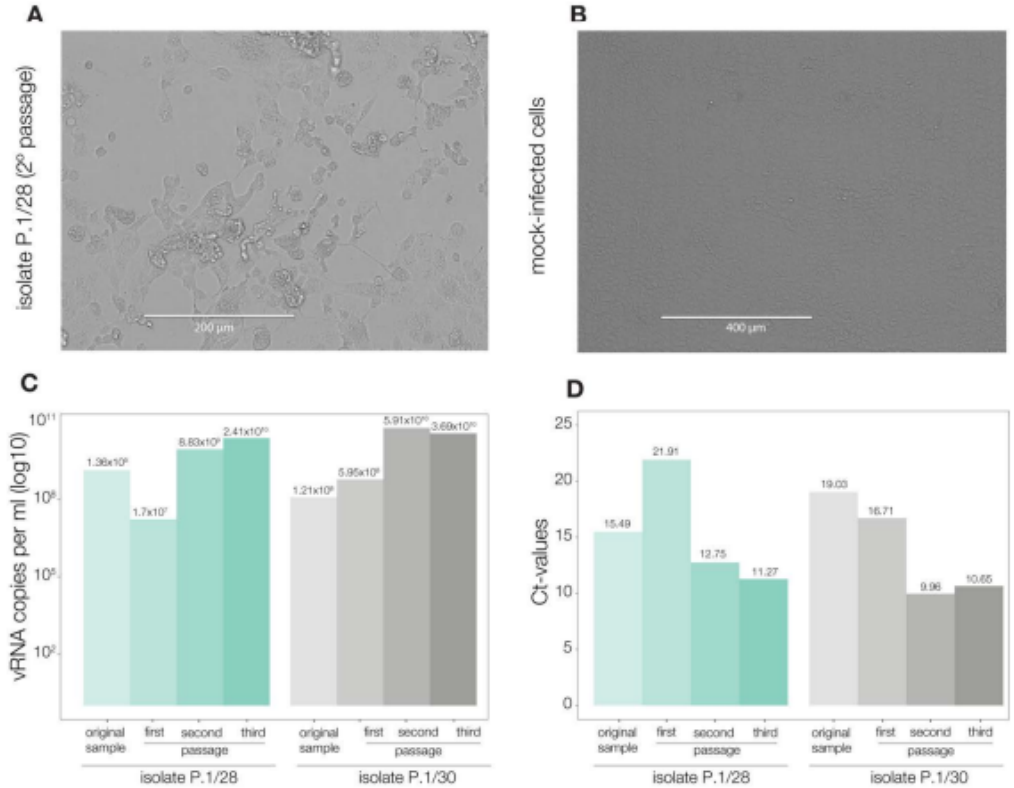
Supplementary appendix

Supplementary Information: Materials and Methods

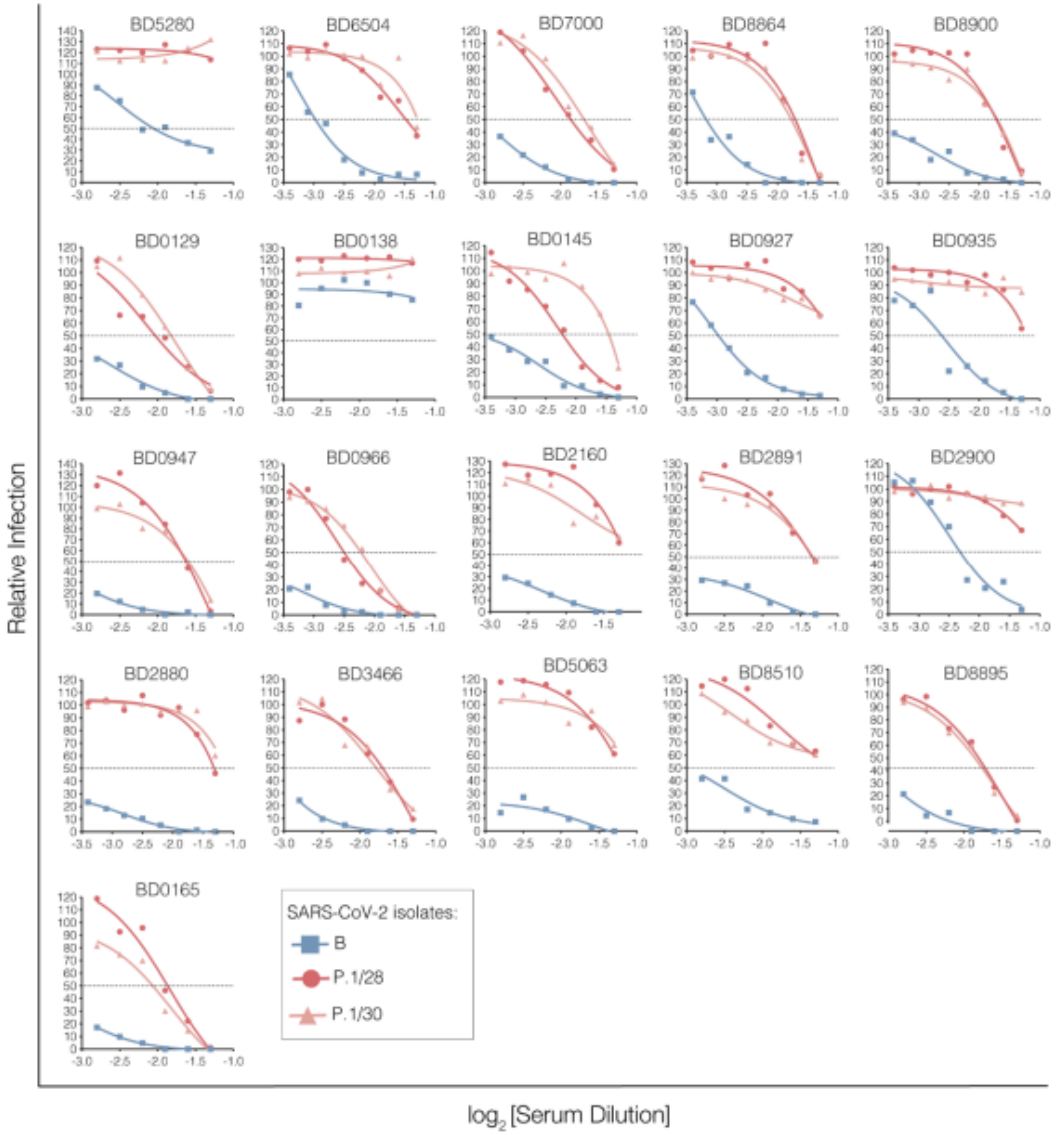
To investigate whether convalescent individuals have reduced plasma virus neutralization titers against isolates of SARS-CoV-2 lineage P.1 compared to those against lineage B viruses. First, we calculated the paired differences in the neutralization titers between lineages P.1/28 and B, and those between P.1/30 and B. Subsequently we dichotomized the paired differences into "greater than 0" and "less or equal to 0" to produce count tables. The count table is the same for both paired differences, so we only need to conduct one hypothesis test. For the hypothesis test, we assumed that each sample was an independent draw from a much larger population, and every sample had the same probability of p of having a paired difference > 0. Consequently, we used a binomial distribution to model the count of "difference > 0". As an indication of statistical support, we calculated the p-value, which is the probability of observing at least as many "differences > 0" out of the total sample size, given that there is no difference in proportions/probabilities between "differences > 0" and "differences ≤ 0". We repeated the above procedure for the plasma from vaccinated individuals. The count tables produced is presented in Table S5. A Bonferroni multiple test correction was applied. In addition, we performed the Pearson's correlation between the two paired differences in the convalescent samples. All these analyses were performed using the R studio version 1.3.1073 (https://rstudio.com)



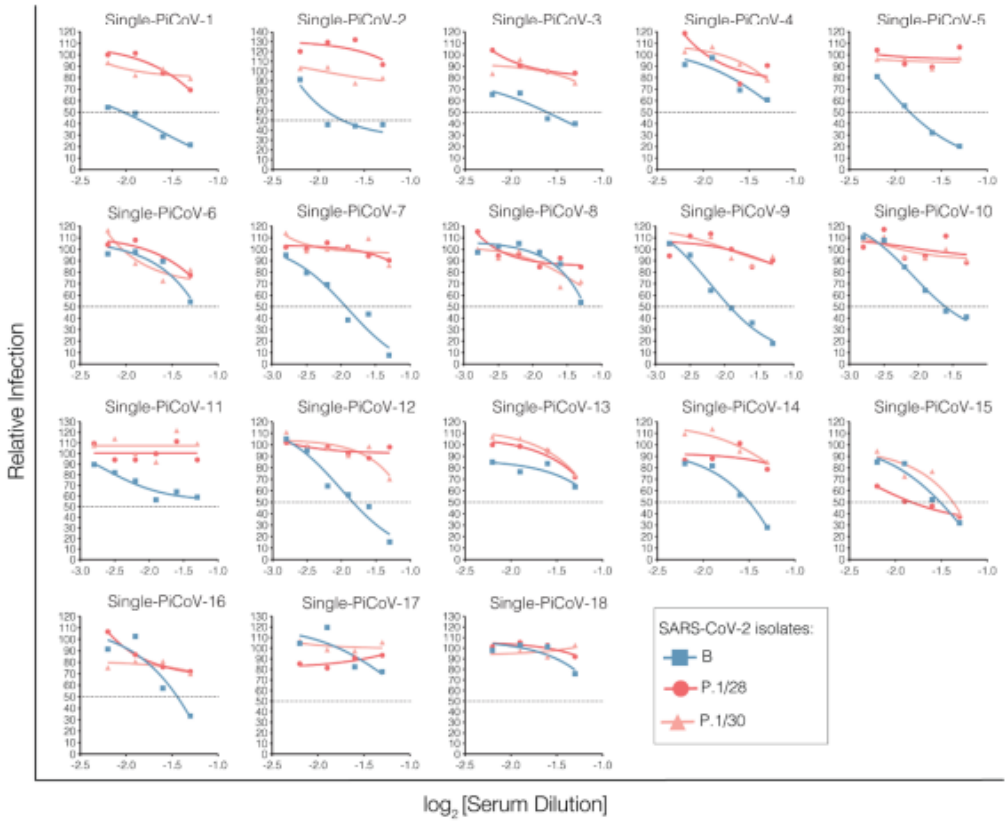
Supplementary Figure 1. Representative image of neutralizing antibody assays used in this study. (A) Virus neutralization test of plasma from COVID-19-convalescent blood-donors and CoronaVac vaccine recipients against isolates of P.1 and B lineages. **(B)** Plaque reduction neutralization test of plasma from COVID-19-convalescent blood-donors against isolates of P.1 and B lineages.



Supplementary Figure 2. SARS-CoV-2 lineage P.1 (P.1/28 and P.1/30) isolated from nasopharyngeal samples of COVID-19 patients from Manaus city, Amazonas, Brazil. Isolation of P.1 lineage of SARS-CoV-2 was performed in Vero cells in a Biosafety Level 3 Facility of the Emerging Viruses Laboratory at the University of Campinas, and a typical cytopathic effect was observed after 72 hours post-infection in inoculated cells (**A**) in comparison with uninfected cells (**B**). The isolation was also confirmed by RT-qPCR for the envelope gene after RNA extraction of the cell supernatant, where is possible to observe an increase in viral load (**C**) and a decrease in the Ct-value (**D**) after the sustained passages in Vero cells. Images were obtained in an EVOS inverted microscope kindly provided by Thermo Fisher Scientific. Images showed were representative of P.1/28 isolate.



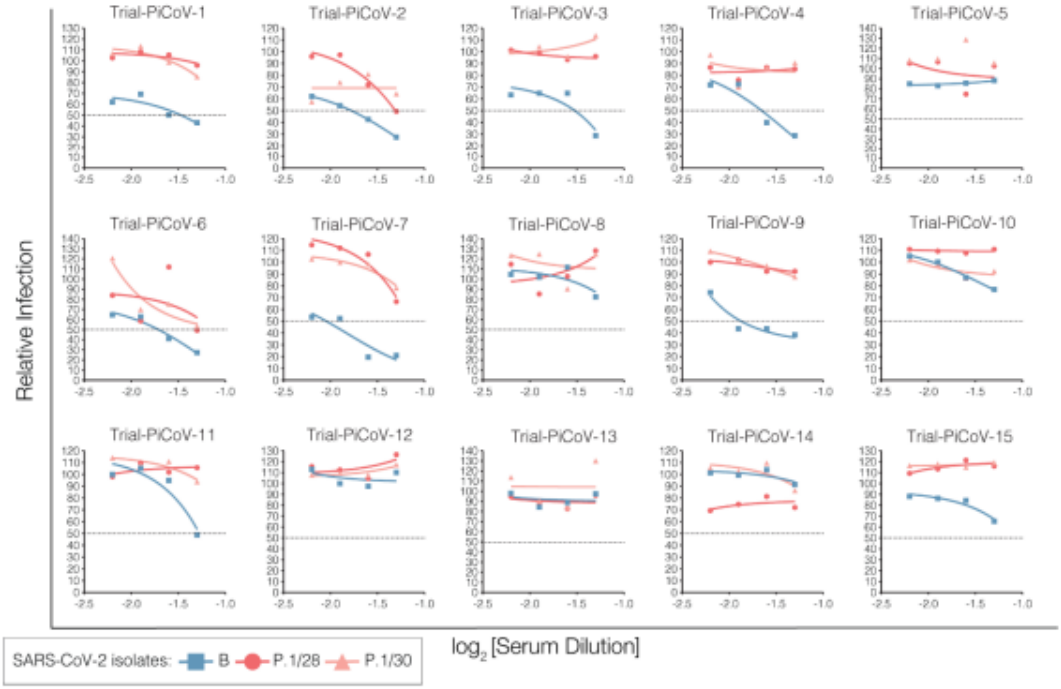
Supplementary Figure 3. $PRNT_{50}$ of each plasma of COVID-19-convalescent blood-donors (n=21). The $PRNT_{50}$ represents the dilution that showed 50% reduction in plaque formation in comparison with a control without plasma after linear regression analysis. The symbols represent the average of plasmas samples and error bars represent the standard errors.



Supplementary Figure 4. $PRNT_{50}$ of each plasma of single-dose CoronaVac recipients (n=18). The $PRNT_{50}$ represents the dilution that showed 50% reduction in plaque formation in comparison with a control without plasma after linear regression analysis. The symbols represent the average of plasmas samples and error bars represent the standard errors.



Supplementary Figure 5. $PRNT_{50}$ of each plasma of two-dose CoronaVac recipients collected ~3 weeks after vaccination (n=38). The plasma was collected between 17 to 38 days (median = 21 days) after second dose. The $PRNT_{50}$ represents the dilution that showed 50% reduction in plaque formation in comparison with a control without plasma after linear regression analysis. The symbols represent the average of plasmas samples and error bars represent the standard errors.



Supplementary Figure 6. $PRNT_{50}$ of each plasma of two-dose CoronaVac recipients collected ~5 months after vaccination (n=38). The plasma was collected between 134 to 260 days (median = 158 days) after second dose. The $PRNT_{50}$ represents the dilution that showed 50% reduction in plaque formation in comparison with a control without plasma after linear regression analysis. The symbols represent the average of plasmas samples and error bars represent the standard errors.

Table S1. Information and VNT_{50} results of COVID-19-convalescent blood-donors.

ID	age	sex	Diagnosis	Symptoms durations (days)	Time between symptoms and collection (days)	Hospitalization	Plasma collection	IgM	IgG	P.1/28 [1]	P.1/30 [1]	B[1]
BD5280	31	F	RT-qPCR	14	52	no	21/05/20	0.88	2.82	<20	<20	<20
BD6504	48	M	RT-qPCR	11	42	no	01/06/20	7.92	3.54	30	<20	220
BD7000	33	F	RT-qPCR	19	44	no	11/06/20	5.48	8.15	60	35	560
BD8864	31	F	RT-qPCR	22	66	no	26/06/20	2.11	4.66	45	35	440
BD8900	43	M	RT-qPCR	0*	71	no	07/07/20	20.42	6.02	<20	50	320
BD0129	34	M	serology	4	69	no	08/07/20	0.74	5.73	25	60	320
BD0138	32	F	RT-qPCR	16	60	no	09/07/20	2.48	0.01	<20	<20	320
BD0145	58	M	serology	10	102	no	10/07/20	1.88	5.47	30	95	1040
BD0927	44	M	RT-qPCR	2	68	no	24/07/20	16.34	6.31	<20	30	400
BD0935	28	F	serology	10	56	no	24/07/20	13.27	7.04	<20	<20	180
BD0947	18	M	serology	3	84	no	21/07/20	3.64	7.14	55	55	260
BD0966	29	F	RT-qPCR	13	43	yes	24/07/20	22.16	8.10	320	120	2560
BD2160	34	F	RT-qPCR	9	73	no	30/07/20	9.23	6.07	<20	20	120
BD2891	57	M	serology	17	10	no	04/08/20	1.39	5.5	60	<20	90
BD2900	36	F	serology	0*	28	no	05/08/20	1.94	7.61	<20	<20	110
BD2880	34	M	RT-qPCR	13	45	no	10/08/20	45.86	5.62	<20	<20	1600
BD3466	43	F	serology	16	68	no	13/08/20	3.06	8.36	40	35	360
BD5063	25	F	serology	34	69	yes	27/08/20	0.29	2.55	30	20	180
BD8510	41	M	RT-qPCR	16	65	no	29/08/20	7.87	0.63	<20	<20	105
BD8895	31	F	RT-PCR	4	96	no	03/07/20	3.05	2.01	35	30	160
BD0165	34	F	serology	12	31	no	14/07/20	0.6	7.81	70	40	240

Legend: RT-qPCR, real-time quantitative polymerase chain reaction. * asymptomatic cases. F, female. M, male. IgM, Immunoglobulin M. IgG, Immunoglobulin G. [1]VNT titer.

Table S2. Information and VNT_{50} values from CoronaVac vaccinated individuals with single-dose and two-dose collected ~3 weeks after immunization.

sample ID		Age (years)	Sex	1ª dose of CoronaVac vaccine							2ª dose of CoronaVac vaccine						
1ª dose	2ª dose			Immunization	Plasma collection	IgM	IgG	P.1/28[1]	P.1/30[1]	B[1]	Immunization	Plasma collection	IgM	IgG	P.1/28[1]	P.1/30[1]	B[1]
Single-PiCoV-1	Two-PiCoV-1	25	M	20/01/21	10/02/21	0.49	1.22	<20	<20	30	10/02/21	02/03/21	0.92	8.2	90	33	130
Single-PiCoV-2	Two-PiCoV-2	25	M	20/01/21	10/02/21	0.07	0.55	<20	<20	30	10/02/21	02/03/21	1.07	0.25	<20	<20	<20
Single-PiCoV-3	Two-PiCoV-3	35	F	20/01/21	10/02/21	0.06	0.41	<20	<20	20	10/02/21	02/03/21	0.43	2.35	<20	30	180
Single-PiCoV-4	Two-PiCoV-4	29	F	20/01/21	10/02/21	0.02	0.57	<20	<20	<20	10/02/21	02/03/21	0.46	1.31	<20	<20	240
Single-PiCoV-5	Two-PiCoV-5	30	F	20/01/21	09/02/21	0.34	0.73	<20	<20	30	10/02/21	03/03/21	0.41	3.9	<20	<20	40
Single-PiCoV-6	Two-PiCoV-6	36	M	20/01/21	10/02/21	0.09	0.09	<20	<20	20	10/02/21	03/03/21	0.13	0.24	<20	20	<20
Single-PiCoV-7	Two-PiCoV-7	24	F	18/01/21	08/02/21	0.13	3.84	<20	<20	50	09/02/21	01/03/21	1.94	3.14	20	20	680
Single-PiCoV-8	Two-PiCoV-8	27	F	20/01/21	10/02/21	0.21	1.23	<20	<20	<20	10/02/21	05/03/21	1.11	2.05	<20	<20	70
Single-PiCoV-9	Two-PiCoV-9	29	F	20/01/21	10/02/21	0.02	0.5	30	<20	30	10/02/21	02/03/21	0.61	0.5	<20	<20	35
Single-PiCoV-10	Two-PiCoV-10	29	F	20/01/21	10/02/21	0.58	1.31	<20	<20	20	10/02/21	03/03/21	0.89	2.46	<20	<20	270
Single-PiCoV-11	Two-PiCoV-11	28	F	20/01/21	10/02/21	0.01	0.43	<20	<20	<20	10/02/21	02/03/21	0.54	0.34	45	20	80
Single-PiCoV-12	Two-PiCoV-12	37	F	20/01/21	10/02/21	0.19	0.76	<20	<20	20	11/02/21	02/03/21	0.98	1.62	45	<20	80
Single-PiCoV-13	Two-PiCoV-13	42	M	20/01/21	11/02/21	0.14	0.84	<20	<20	20	10/02/21	03/03/21	0.52	0.47	<20	20	<20
Single-PiCoV-14	Two-PiCoV-14	26	F	20/01/21	10/02/21	0.29	0.14	<20	<20	50	10/02/21	02/03/21	0.93	2.94	45	<20	90
Single-PiCoV-15	Two-PiCoV-15	38	M	20/01/21	10/02/21	0.01	0.93	<20	<20	30	10/02/21	05/03/21	3.37	0.4	<20	<20	20
Single-PiCoV-16	Two-PiCoV-16	26	F	20/01/21	10/02/21	0.08	0.69	<20	<20	30	10/02/21	02/03/21	0.94	4.25	35	20	170
Single-PiCoV-17	Two-PiCoV-17	28	M	21/01/21	11/02/21	0.02	0.11	<20	<20	20	12/02/21	04/03/21	0.18	0.1	<20	<20	40
Single-PiCoV-18	Two-PiCoV-18	42	F	20/01/21	12/02/21	0.03	0.25	<20	<20	<20	10/02/21	04/03/21	1.16	0.31	25	25	<20
N/A	Two-PiCoV-19	46	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	04/03/21	1.77	0.34	<20	20	<20
N/A	Two-PiCoV-20	43	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	04/03/21	0.59	0.66	20	<20	50

N/A	Two-PiCoV-21	40	F	10/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	02/03/21	24/03/21	1.96	2.45	<20	25	30
N/A	Two-PiCoV-22	36	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	04/03/21	0.11	0.5	<20	160	<20
N/A	Two-PiCoV-23	41	M	22/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	12/02/21	04/03/21	0.46	1.16	25	<20	<20
N/A	Two-PiCoV-24	25	F	07/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	27/02/21	25/03/21	1	6.79	25	<20	20
N/A	Two-PiCoV-25	42	M	23/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	16/02/21	26/03/21	0.48	0.31	50	55	2560
N/A	Two-PiCoV-26	56	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	01/03/21	0.71	3.99	25	<20	20
N/A	Two-PiCoV-27	30	F	07/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	27/02/21	24/03/21	0.47	0.2	<20	<20	<20
N/A	Two-PiCoV-28	24	F	20/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	10/02/21	02/03/21	1.91	1.53	25	50	960
N/A	Two-PiCoV-29	37	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	04/03/21	0.85	4.02	140	210	960
N/A	Two-PiCoV-30	26	F	09/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	02/03/21	19/03/21	0.78	4.09	50	20	120
N/A	Two-PiCoV-31	24	F	07/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	27/02/21	24/03/21	0.37	0.41	20	<20	680
N/A	Two-PiCoV-32	57	F	04/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	03/03/21	23/03/21	0.88	0.21	<20	30	800
N/A	Two-PiCoV-33	68	F	19/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	09/02/21	04/03/21	0.44	0.08	<20	<20	<20
N/A	Two-PiCoV-34	24	M	04/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	26/02/21	24/03/21	0.32	1.09	<20	30	640
N/A	Two-PiCoV-35	26	M	09/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	01/03/21	24/03/21	0.64	2.69	<20	<20	<20
N/A	Two-PiCoV-36	29	F	04/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	24/02/21	19/03/21	2.17	2.17	25	<20	120
N/A	Two-PiCoV-37	32	F	21/01/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	12/02/21	04/03/21	0.31	0.37	<20	<20	680
N/A	Two-PiCoV-38	24	F	08/02/21	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	N/P	28/02/21	24/03/21	0.33	0.78	<20	85	1920

Legend: N/A, not applicable. N/P, not performed. F, female. M, male. IgM, Immunoglobulin M. IgG, Immunoglobulin G. [1]VNT titer.

Table S3. Information and VNT_{50} values from CoronaVac vaccinated individuals with two-dose collected 5 months after second-dose.

ID	Age (years)	sex	1° dose	2° dose	Plasma collection	IgM	IgG	P.1/ 28 [1]	P.1/30[1]	B[1]
Trial-PiCoV-1	59	F	13/08/20	28/08/20	28/01/21	0.29	0.33	*<20*	*<20*	20
Trial-PiCoV-2	40	F	14/08/20	28/08/20	28/01/21	0.26	0.06	*<20*	*<20*	35
Trial-PiCoV-3	29	M	14/08/20	28/08/20	02/02/21	0.06	0.38	*<20*	*<20*	20
Trial-PiCoV-4	38	M	14/08/20	28/08/20	02/02/21	0.06	0.08	*<20*	*<20*	90
Trial-PiCoV-5	34	M	14/08/20	28/08/20	02/02/21	0.15	0.36	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-6	36	F	14/08/20	28/08/20	02/02/21	0.12	0.16	*<20*	*<20*	30
Trial-PiCoV-7	32	M	14/08/20	28/08/20	03/02/21	0.87	0.31	*<20*	*<20*	25
Trial-PiCoV-8	34	F	14/08/20	28/08/20	03/02/21	0.43	0.29	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-9	35	F	20/08/20	03/06/20	18/02/21	0.10	0.31	*<20*	*<20*	30
Trial-PiCoV-10	31	F	03/09/20	18/09/20	12/02/21	0.14	1.09	*<20*	*<20*	60
Trial-PiCoV-11	28	F	21/08/20	04/09/20	18/02/21	0.08	0.25	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-12	34	M	17/09/20	30/09/20	11/02/21	0.04	0.07	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-13	42	F	17/08/20	31/08/20	19/02/21	0.12	0.13	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-14	39	F	18/08/20	27/08/20	19/02/21	0.04	0.85	*<20*	*<20*	*<20*
Trial-PiCoV-15	32	F	18/08/20	27/08/20	19/02/21	0.31	0.09	*<20*	*<20*	*<20*

Legend: F, female. M, male. IgM, Immunoglobulin M. IgG, Immunoglobulin G. [1]VNT titer.

Table S4. Information of genome sequencing of SARS-CoV-2 lineage P.1 used in neutralizing antibody assays.

Amino acid	Protein	Position	P.1/28*	P.1/30*
aa	*orf1ab*	*S1188L*	undetermined	confirmed
aa	*orf1ab*	*K1795Q*	confirmed	confirmed
deletion	*11288*	*9 (aa)*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*L18F*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*T20N*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*P26S*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*D138Y*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*R190S*	undetermined	confirmed
aa	*S*	*K417T*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*E484K*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*N501Y*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*H655Y*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*T1027I*	confirmed	confirmed
aa	*orf3a*	*G174C*	absence	absence
aa	*orf8*	*E92K*	confirmed	confirmed
aa	*N*	*P80R*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*D614G*	confirmed	confirmed
aa	*S*	*V1176F*	confirmed	confirmed
aa	*orf3a*	S253P	confirmed	confirmed
aa	*N*	*R203K*	confirmed	confirmed
aa	*N*	*G204R*	confirmed	confirmed
aa	*N*	*S250P*	confirmed	absence
aa	nsp3	S370L	undetermined	confirmed
aa	nsp3	K977Q	confirmed	confirmed
aa	nsp3	S1735F	absence	confirmed
aa	nsp6	L260F	absence	confirmed
aa	nsp12	P323L	confirmed	confirmed
aa	nsp13	E341D	confirmed	confirmed

Legend: * sequences are available on GISAID (accession number: EPI_ISL_1708317 and EPI_ISL_1708318; https://www.gisaid.org). The coding regions are those annotated on Wuhan-Hu-1 (GenBank accession number: NC_045512).

Table S5. Count tables of paired differences.

Groups	Isolates paired	less or equal to 0 ("≤ 0")	greater than 0 ("> 0")
COVID-19-convalescent blood-donors	B and P.1/28	1	20
	B and P.1/30	1	20
Single-dose CoronaVac (~3 week after)	B and P.1/28	5	13
	B and P.1/30	4	14
Two-doses CoronaVac (~3 week after)	B and P.1/28	12	26
	B and P.1/30	10	28
Two-doses CoronaVac (~5 months after)	B and P.1/28	7	8
	B and P.1/30	7	8

Artigo 4. De Souza, W; Muraro, SP; Souza, GF; Amorim, MR *et. al*, 2021

viruses

MDPI

Article

Clusters of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Infection after Vaccination with Adenovirus-Vectored and Inactivated Vaccines

William M. de Souza [1,2,†], Stéfanie P. Muraro [3,†], Gabriela F. Souza [3,†], Mariene R. Amorim [3,†], Renata Sesti-Costa [4,5,†], Luciana S. Mofatto [3], Julia Forato [3], Priscilla P. Barbosa [3], Daniel A. Toledo-Teixeira [3], Karina Bispo-dos-Santos [3], Pierina L. Parise [3], Natalia S. Brunetti [6], Joselia C. O. Moreira [7], Vitor A. Costa [5], Daniela M. Cardozo [8], Maria L. Moretti [9], Silvia Barros-Mazon [8], Gabriela F. Marchesi [10], Christiane Ambrosio [10], Fernando R. Spilki [11], Valeria C. Almeida [10], Andre S. Vieira [7], Lair Zambon [9], Alessandro S. Farias [6,12,13], Marcelo Addas-Carvalho [5], Bruno D. Benites [5], Rafael E. Marques [4], Ester C. Sabino [14,15], Andrea B. Von Zuben [10], Scott C. Weaver [2,16], Nuno R. Faria [15,17,18], Fabiana Granja [3,19,‡], Rodrigo N. Angerami [9,10,‡] and José Luiz Proença-Módena [3,13,*,‡]

1 Virology Research Centre, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto 14049-900, Brazil; wmdesouz@utmb.edu
2 Department of Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA; sweaver@utmb.edu
3 Laboratory of Emerging Viruses, Department of Genetics, Microbiology and Immunology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; stefaniemuraro@gmail.com (S.P.M.); gabriela.sfabiano@gmail.com (G.F.S.); mariene.ramorim@gmail.com (M.R.A.); luciana.mofatto@gmail.com (L.S.M.); foratojulia@gmail.com (J.F.); priscillapaschoal@hotmail.com (P.P.B.); teixeiradatt@gmail.com (D.A.T.-T.); karina.bsantos@hotmail.com (K.B.-d.-S.); pierinalp@gmail.com (P.L.P.); fabi.granja@yahoo.com.br (F.G.)
4 Brazilian Biosciences National Laboratory, Brazilian Centre for Research in Energy and Materials, Campinas 13083-100, Brazil; renata.sesti@gmail.com (R.S.-C.); rempsufmg@gmail.com (R.E.M.)
5 Hematology and Hemotherapy Center, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; vitorc@unicamp.br (V.A.C.); maddas@unicamp.br (M.A.-C.); benites@unicamp.br (B.D.B.)
6 Autoimmune Research Laboratory, Department of Genetics, Microbiology and Immunology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; nbrunetti.bio@gmail.com (N.S.B.); asfarias@unicamp.br (A.S.F.)
7 Department of Structural and Functional Biology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; jocris@unicamp.br (J.C.O.M.); vieira.as@gmail.com (A.S.V.)
8 Department of Clinical Pathology, School of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; danielamcardozo@hc.unicamp.br (D.M.C.); sbmazon@unicamp.br (S.B.-M.)
9 Department of Internal Medicine, School of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; lmoretti@unicamp.br (M.L.M.); lzambon@fcm.unicamp.br (L.Z.); rodrigo.angerami@gmail.com (R.N.A.)
10 Campinas Department of Public Health Surveillance, Campinas 13015-904, Brazil; gabriela.marchesi@campinas.sp.gov.br (G.F.M.); christiane.ambrosio@campinas.sp.gov.br (C.A.); valcalmeida@gmail.com (V.C.A.); andreabrunovonzuben@gmail.com (A.B.V.Z.)
11 One Health Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo 93510-235, Brazil; fernandors@feevale.br
12 Obesity and Comorbidities Research Center, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil
13 Experimental Medicine Research Cluster, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil
14 Tropical Medicine Institute, Medical School, University of São Paulo, São Paulo 05403-907, Brazil; sabinoec@gmail.com
15 Department of Infectious and Parasitic Disease, Medical School, University of São Paulo, São Paulo 05403-000, Brazil; n.faria@imperial.ac.uk
16 Institute for Human Infection and Immunity, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA
17 Department of Zoology, University of Oxford, Oxford OX1 2JD, UK
18 MRC Centre for Global Infectious Disease Analysis, J-IDEA, Imperial College London, London SW7 2AZ, UK
19 Biodiversity Research Centre, Federal University of Roraima, Boa Vista 72000-000, Brazil
* Correspondence: jlmodena@unicamp.br
† These authors contributed equally to this work.
‡ These senior authors contributed equally to this work.

check for updates

Citation: de Souza, W.M.; Muraro, S.P.; Souza, G.F.; Amorim, M.R.; Sesti-Costa, R.; Mofatto, L.S.; Forato, J.; Barbosa, P.P.; Toledo-Teixeira, D.A.; Bispo-dos-Santos, K.; et al. Clusters of SARS-CoV-2 Lineage B.1.1.7 Infection after Vaccination with Adenovirus-Vectored and Inactivated Vaccines. *Viruses* **2021**, *13*, 2127. https://doi.org/10.3390/v13112127

Academic Editors: Luis Martinez-Sobrido and Fernando Almazan Toral

Received: 11 September 2021
Accepted: 15 October 2021
Published: 22 October 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract: A SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant of concern (VOC) has been associated with increased transmissibility, hospitalization, and mortality. This study aimed to explore the factors associated with B.1.1.7 VOC infection in the context of vaccination. On March 2021, we detected SARS-CoV-2 RNA

in nasopharyngeal samples from 14 of 22 individuals vaccinated with a single-dose of ChAdOx1 (outbreak A, $n = 26$), and 22 of 42 of individuals with two doses of the CoronaVac vaccine (outbreak B, $n = 52$) for breakthrough infection rates for ChAdOx1 of 63.6% and 52.4% for CoronaVac. The outbreaks were caused by two independent clusters of the B.1.1.7 VOC. The serum of PCR-positive symptomatic SARS-CoV-2-infected individuals had ~1.8–3.4-fold more neutralizing capacity against B.1.1.7 compared to the serum of asymptomatic individuals. These data based on exploratory analysis suggest that the B.1.1.7 variant can infect individuals partially immunized with a single dose of an adenovirus-vectored vaccine or fully immunized with two doses of an inactivated vaccine, although the vaccines were able to reduce the risk of severe disease and death caused by this VOC, even in the elderly.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; variant of concern; B.1.1.7; vaccine; outbreak

1. Introduction

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) lineage B.1.1.7 (also known as the alpha variant) was first detected in the UK in late 2020. To date, this lineage has been reported in 163 countries [1]. In March 2021, B.1.1.7 became the dominant lineage in the UK, USA, Denmark, and Switzerland [2]. B.1.1.7 features 17 mutations and three deletions, including the N501Y substitution in the spike protein [2]. In some studies, this lineage has been associated with enhanced transmissibility, mortality, and more coronavirus disease 19 (COVID-19) hospitalizations compared to previously circulating SARS-CoV-2 lineages [2–4]. In addition, in vitro studies have shown a reduction of up to 11.4-fold in the neutralizing antibody capacity of plasma of vaccinated individuals (i.e., BNT162b2, mRNA-1273, and ChAdOx1) against wild-type B.1.1.7 isolates or pseudoviruses featuring the B.1.1.7 spike mutations, which suggests immune escape [5–7]. However, other studies show little or no difference in the neutralization antibody capacity of the plasma of vaccinated individuals against the B.1.1.7 variant compared to the original Wuhan or equivalent strains [8,9].

In Brazil, the first cases caused by B.1.1.7 lineage were identified in São Paulo city in patients who traveled from the UK in December 2020 [10]. The B.1.1.7 lineage has recently been detected in over 10 Brazilian states resulting from multiples introductions [11]. In January 2021, the CoronaVac (Sinovac) and ChAdOx1 (Oxford-AstraZeneca) vaccines received Emergency Use Authorization from the Ministry of Health of Brazil. Both vaccines require two doses for completion of the vaccination series. The recommended interval between doses is 14–28 days for CoronaVac and 90 days for the ChAdOx1 vaccine [12,13]. As of 27 August 2021, 47.5% (57.4 of 120.8 million) of individuals in Brazil had received a single dose of the ChAdOx1 vaccine, while 28.6% (34.6 of 120.8 million) were CoronaVac recipients. On the other hand, 47.1% (25.6 of 54.4 million) of individuals were immunized with the complete series (i.e., two doses) of CoronaVac, and 41.2% (22.4 of 54.4 million) received two doses of the ChAdOx1 vaccine.

To increase the number of individuals receiving at least a single dose of vaccine to avert COVID-19 severity and prevent mortality, it has been proposed to delay the second dose of the primary immunization series [14–18]. Several studies have investigated whether a single-dose regimen of the adenovirus-vectored vaccine or full immunization with an inactivated vaccine is sufficient to interrupt SARS-CoV-2 transmission [19–21]. This study, therefore, aimed to evaluate factors associated with two B.1.1.7 transmission clusters in the context of vaccination with ChAdOx1 and CoronaVac vaccines.

2. Materials and Methods

2.1. Study Design, Participants, and Ethics

The SARS-CoV-2 outbreak investigations were performed in the collaboration with the Department of Health Surveillance of Campinas city in a convent and a long-term care (LTC) facility in Campinas city, São Paulo State, Brazil. Inclusion criteria for our cohorts

were individuals at least 18 years of age exposed to residents infected with SARS-CoV-2 in these two locations in March 2021. Residents and employees from both locations were included in the study. Nasopharyngeal and serum specimens were collected during a visit of health surveillance assistants between 24 and 29 March 2021, after a positive laboratory test in a resident and the onset of symptoms in other residents. Clinical data were collected from electronic medical records, including age, sex, symptom duration, the time between symptoms and collection, vaccination date, and hospitalization during the SARS-CoV-2 infection (Table S1). The collection of biological samples took place in the context of epidemiological investigation of the COVID-19 outbreak, including laboratory investigation of symptomatic cases and exposed contacts conducted by the municipal health surveillance department.

2.2. RNA Extraction and Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction

Viral RNA was extracted from the nasopharyngeal swab samples using the Quick-DNA/RNA viral kit (Catalog number: D7021, Zymo Research, Irvine, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. The RNA from samples was tested by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) targeting the envelope gene [22], as well as the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (Catalog number: IFMR-45, OSANG Healthcare, Seoul, Korea). A confirmed SARS-CoV-2 case was defined as positive by RT-qPCR for at least one protocol. For comparing viral loads between ChAdOx1- and CoronaVac-vaccinated patients, we used nonparametric Mann–Whitney U test analysis. A Dunn–Bonferroni post hoc correction was applied. We conducted this statistical analysis using RStudio (v1.3.1) and considered statistical significance as a p-value < 0.05.

2.3. SARS-CoV-2 Genome Sequencing

Positive samples by RT-qPCR with cycle threshold (Ct) values <30 were submitted for SARS-CoV-2 genome sequencing carried out using the ARTIC network SARS-CoV-2 v3 primer scheme (https://artic.network/ncov-2019, accessed on 24 March 2020) protocol with the MinION platform (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK) [23,24]. Then, FAST5 files containing the raw signal data were base-called, demultiplexed, and trimmed using Guppy version 4.4.1 (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK). The reads were aligned against the reference genome Wuhan-Hu-1 (GenBank accession no. MN908947.3) using minimap2 version 2.17.r941 [25] and converted to a sorted BAM file using SAMtools [26]. Length filtering, quality testing, primmer trimming, variant calling, and consensus sequences were performed for each barcode using guppyplex (https://artic.network/ncov-2019, accessed on 24 March 2020). Genome regions with a depth <20-fold were represented with N characters.

2.4. Genomic and Phylogenetic Analysis

Sequences with ≥75% genome coverage were uploaded to the CoV-GLUE online resource (http://cov-glue.cvr.gla.ac.uk/ accessed on 10 May 2021) and Pangolin COVID-19 Lineage Assigner tool (v.2.2.1, 25 May 2021) for mutation identification and lineage classification [27,28]. To contextualize newly sequenced genomes, we compiled a dataset of 255 B.1.1.7 sequences from Brazil and abroad (e.g., UK, USA, Spain, Portugal, France, and Italy) available in the GISAID until 26 June 2021 (https://www.gisaid.org, accessed on 26 June 2021). Duplicate sequences were removed from the alignments. Tables describing publicly available data used, including GISAID ID, authors, and the submitting laboratory, can be found in Table S2. Multiple sequence alignment was carried out using MAFFT version 7.309 [29], and manual adjustment was conducted using Geneious Prime 2020.2.3. A maximum-likelihood (ML) tree was performed using a 29,521-nucleotide alignment after removing 3′ and 5′ untranslated regions. An ML tree was inferred using the IQ-TREE version 1.6.12, and a nucleotide substitution model was determined with ModelFinder [30,31]. In addition, our dataset was screened for recombination using RDP v.4 [32].

2.5. SARS-CoV-2 Virus Isolation

Virus isolation in Vero cells (CCL-81, ATCC, Manassas, VA, USA) was performed using nasopharyngeal lavage samples as previously described [33]. Subsequently, virus replication was confirmed in the culture supernatant by observing lower Ct values in RT-qPCR [22]. The first passage was propagated in Vero cells to obtain a greater volume stock. Both first and second passages were titrated by plaque assay. All experiments related to cell culture and viral replication were performed under biosafety level 3 (BSL-3) in the Laboratory of Emerging Viruses of the University of Campinas, Brazil. In addition, we also sequenced SARS-CoV-2 genomes from the first and second passages, as described above.

2.6. Serology

Immunoglobulin G (IgG) antibodies against the spike receptor-binding domain (S-RBD) of SARS-CoV-2 in serum samples were measured by SARS-CoV-2 IgG II Quant (Catalog number: 06S6122, Alinity, Abbott Diagnostics, Chicago, IL, USA), according to the manufacturer's instructions. This method is an automated chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) used to detect IgG antibodies in a qualitative and quantitative form [34]. Results $\geq$ 50.0 AU/mL were considered positive [35]. Then, we compared IgG (S-RBD) antibody levels between individuals PCR-positive and -negative who were vaccinated with a single dose of ChAdOx1 or two doses of CoronaVac and those who were unvaccinated. For comparing between groups, we used nonparametric Kruskal–Wallis one-way analysis. A Dunn's multiple comparison test correction was applied. We conducted this statistical analysis using RStudio (v1.3.1) and considered statistical significance as a p-value < 0.05. In addition, we measured the total SARS-CoV-2 antibodies (i.e., IgA, IgM, and IgG) specific against the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein from ChAdOx1 recipients using the Elecsys Anti-SARS-CoV-2 electrochemiluminescence immunoassay (Catalogue number: 49025801, Roche Diagnostics, Rotkreuz, Switzerland) following the manufacturer's instructions. Results are reported as numeric values in the form of a qualitative result as nonreactive (cutoff index (COI) < 1.0; negative) and reactive (COI $\geq$ 1.0; positive).

2.7. Plaque Reduction Neutralization Test

An in-house plaque reduction neutralization test (PRNT) was performed as previously described [33]. Plaque reduction was calculated for each sample by comparing the number of plaques in wells inoculated with SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 isolate. Mean serum neutralizing antibody titers (50% neutralization testing ($PRNT_{50}$)) were calculated as an average of two independent experiments.

3. Results

In March 2021, we identified two COVID-19 outbreaks in vaccinated individuals who had received a single dose of ChAdOx1 in a convent (Outbreak A) or two doses of CoronaVac vaccine in an LTC facility (Outbreak B) in Campinas city, São Paulo State, Brazil (Figure 1). The vaccination itself was not associated with any serious adverse events in both cohorts.

Outbreak A occurred in a female convent, where 83.3% (15 of 18) of residents (i.e., nuns) and 87.5% (7 of 8) of employees were vaccinated with a single dose of ChAdOx1 vaccine on 5 February 2021. One resident was immunized with the Ad26.COV2.S (Janssen Pharmaceutical Companies, Beerse, Belgium) vaccine on 17 March 2021, during the phase 3 trial in Brazil [36] (Figure 1A). Of these, 25 (96.2%) were women, and the median age was 73 years (interquartile range: 50–83). Between 1 and 22 March 2021, 10 nuns reported respiratory signs or symptoms (i.e., cough, dyspnea, and respiratory distress). On March 24, serum and nasopharyngeal swab samples were collected from 26 individuals in the convent (Figure 1A). We performed RT-qPCR testing of all residents and employees, and SARS-CoV-2 RNA was detected in nasopharyngeal samples of 63.6% (14 of 22) of individuals who had received a single dose of ChAdOx1, including nine nuns and one employee. Moreover, one

unvaccinated staff member and a resident who was vaccinated with Ad26.COV2.S were PCR-positive for SARS-CoV-2 RNA (Figure 2A). The interval between the vaccination and the onset of symptoms was at least 23 days. The median viral load was 3.4×10^1 RNA copies per mL (interquartile range: 8.8×10^1 to 4.3×10^3) (Figure S1A). Overall, 50% (eight of 16) of cases were classified as mild COVID-19, and the other half were asymptomatic. None of the cases had moderate or severe COVID-19, and hospitalization was not required. According to the institution's record, eight nuns had been outside the convent in the past 30 days, and all employees were living outside the convent.

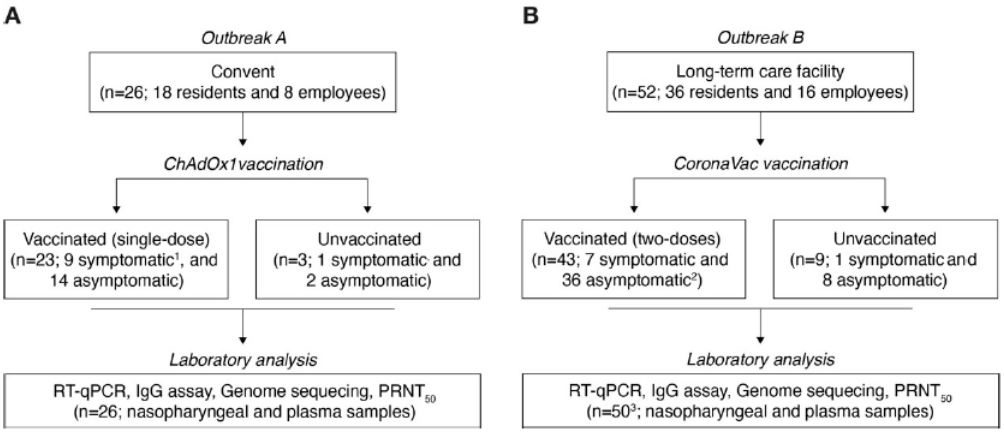


Figure 1. Flow diagram describing the outbreaks reported in this study. Outbreak A in convent (**A**), and outbreak B in long-term care facility (B). [1] Includes a nun who was vaccinated with Ad26.COV2.S (Janssen Pharmaceutical Companies, Beerse, Belgium). [2] Includes an employee vaccinated with a single dose of ChAdOx1. [3] Biological samples from a resident (ID: LTC20) and an employee (ID: LTC37) were not collected, the first because the patient was admitted to the hospital with COVID-19 and died 2 weeks later, and the second was paid time off during the collection samples time. Abbreviations: RT-qPCR; real-time quantitative polymerase chain reaction; IgG, immunoglobulin G; PRNT, plaque reduction neutralization tests.

Outbreak B occurred in an LTC facility, where 88.9% (32 of 36) of the residents and 62.5% (10 of 16) of the employees were immunized with two doses of CoronaVac vaccine between the 7 February and 4 March 2021 (Figure 1B). In addition, one employee was vaccinated with ChAdOx1 on 21 January 2021. Of these, 78.8% (41 of 52) were women, and the median age was 77 years (interquartile range: 51–87). Between 5 and 27 March, 2021, seven residents and one employee reported respiratory symptoms. On 29 March, serum and nasopharyngeal swab samples were collected from 50 of the 52 individuals in the LTC facility (Figure 1B). The interval between the second dose and onset of symptoms varied between 5 and 27 days. Here, we also performed serial RT-qPCR testing samples of residents and employees of the LTC facility, and we detected SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal samples of 52.4% (22 of 42) of individuals, including 18 residents and four employees, who received two doses of CoronaVac vaccine at least 5 days before the first case of outbreak B (Figure 2B). We also estimated the median viral load as 2.3×10^3 RNA copies per mL (interquartile range: 8.8×10^2 to 1.4×10^5) (Figure S1A). Interestingly, most cases (75%, 18 of 22) were asymptomatic, and four were classified as mild COVID-19. Furthermore, we detected SARS-CoV-2 RNA in nasopharyngeal samples from three unvaccinated individuals who were asymptomatic (ID: LTC 19, LTC35, LTC36). In addition, one resident (ID: LTC20) had an onset of symptoms on 25 March 2021, 21 days after the second dose of CoronaVac. This patient, who was 84 years old with Alzheimer's disease, was SARS-CoV-2-positive by RT-PCR, was hospitalized on March 28, and died of COVID-19 on 19 April 2021. Lastly, we compared the viral loads between the patients infected with SARS-CoV-2 who were

vaccinated with ChAdOx1 (n = 10) versus CoronaVac (n = 11), but no significant differences were observed (Figure S1A).

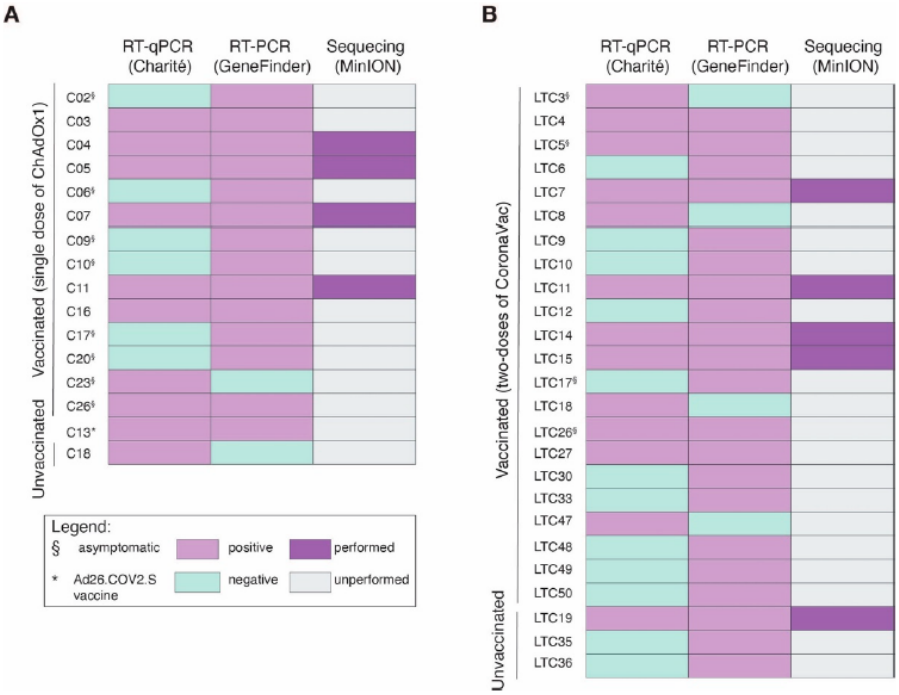


Figure 2. Diagnosis of SARS-CoV-2 cases from outbreaks described in this study. Outbreak A in convent (**A**), and outbreak B in long-term care facility (**B**). Abbreviations: RT-qPCR; real-time quantitative polymerase chain reaction; C, convent; LTC, long-term care facility.

To investigate the SARS-CoV-2 lineage associated with these infections, we sequenced SARS-CoV-2 genomes from a subset of nasopharyngeal samples with RT-qPCR Ct-values $\leq$ 30 (outbreak A = 4 and outbreak B = 5). We obtained sequences with 78.6% to 97% genome coverage (minimum depth $\geq$ 20-fold) from these nine individuals. All SARS-CoV-2 genomes obtained from both outbreaks were classified into the B.1.1.7 (recently designated the alpha lineage according to a World Health Organization recommendation), and we confirmed all signature mutations from this lineage (Table S3). The ML tree revealed that the genome sequences obtained from outbreaks A and B clustered in independent clades (bootstrap values $\geq$ 99), suggesting two distinct transmission clusters (Figure 3). Furthermore, we found only one nucleotide difference among the SARS-CoV-2 genomes from outbreak A (convent), $\leq$2 nucleotide differences among the genomes from outbreak B (LCT facility), and six difference among the genome sequences from outbreaks A and B (Table S3). All sequences are available on GISAID (accession numbers: EPI_ISL_2497923, EPI_ISL_2497906, EPI_ISL_2497898, EPI_ISL_2497896, EPI_ISL_2497882, EPI_ISL_2497881, EPI_ISL_2497867, EPI_ISL_2497849, and EPI_ISL_2497847; https://www.gisaid.org, accessed on 26 June 2021).

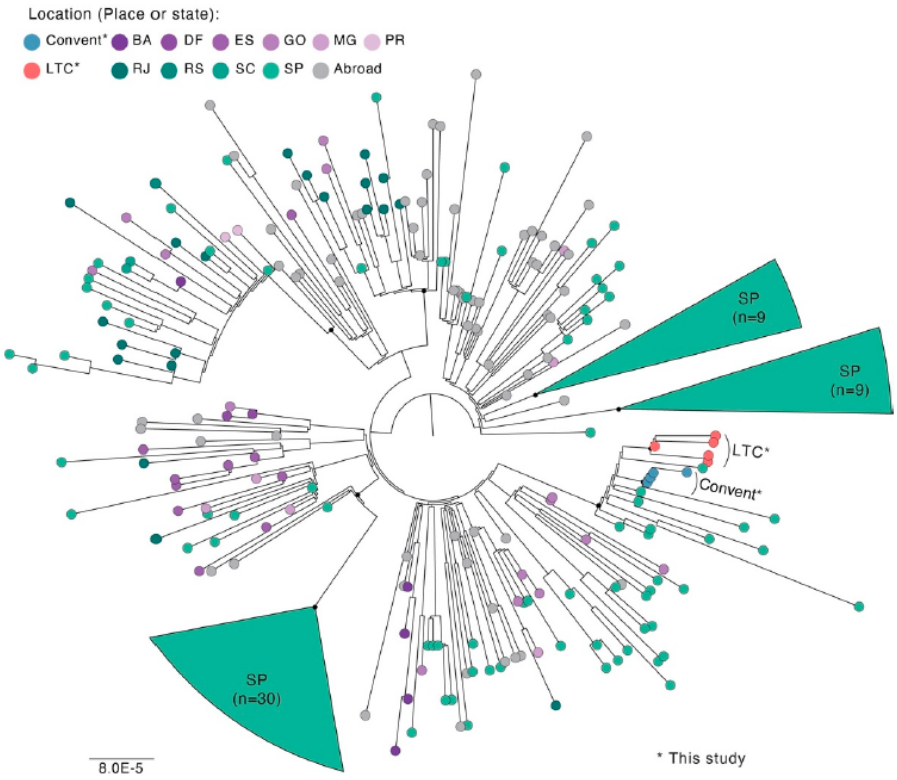


Figure 3. Maximum-likelihood tree (n = 264) was estimated using IQ-tree version 1.6.12 [27] and constructed using an alignment of the near-complete genome (untranslated regions were removed) and using a GTR + F + I substitution model [28] with 1000 ultrafast bootstrap replicates. The scale bar indicates the evolutionary distance in numbers of substitutions per nucleotide site. The color on terminal branches indicates the place (LTC facility, n = 5 and convent, n = 4) or Brazilian state reported, as indicated in the legend. The sequences are available on GISAID, accession numbers: EPI_ISL_2497923, EPI_ISL_2497906, EPI_ISL_2497898, EPI_ISL_2497896, EPI_ISL_2497882, EPI_ISL_2497881, EPI_ISL_2497867, EPI_ISL_2497849, and EPI_ISL_2497847; https://www.gisaid.org, accessed on 26 June 2021). Abbreviations: LTC, long-term care facility; BA, Bahia state; DF, Distrito Federal; ES, Espírito Santo state, GO, Goiás state; MG, Minas Gerais state; PR, Paraná state; RJ, Rio de Janeiro state; RS, Rio Grande do Sul; SC, Santa Catarina state; SE, Sergipe state; SP, São Paulo state; abroad, countries other than Brazil. Black dots indicate the main nodes with ML bootstrap support levels > 75% based on 1000 bootstrap replicates.

We found that 95.5% (21 of 22) and 83.3% (35 of 42) of the individuals who received a single dose of ChAdOx1 or two doses of CoronaVac, respectively, were positive for IgG (S-RBD) antibody (cutoff $\geq$ 50.0 AU/mL). In addition, 25% (three of 12) of nonvaccinated patients were IgG (S-RBD)-positive, one was PCR-positive, and two were PCR-negative (Figure S1B). Patients who were SARS-CoV-2-infected and immunized with ChAdOx1 presented the higher median IgG antibody titer against spike protein (6687 AU/mL), which was statistically different compared to IgG (S-RBD) levels of unvaccinated individuals (p-value = 0.0165 and 0.00237 for PCR-positive and -negative, respectively). On the other hand, the detected immunoglobulin antibody levels elicited against the SARS-CoV-2 nucleocapsid protein in 18.2% (four of 22) individuals vaccinated with ChAdOx1 vaccine indicated a recent SARS-CoV-2 infection because this protein is not expressed from this vaccine (Table S1).

To measure the neutralizing antibody capacity in individuals infected with B.1.1.7 and previously vaccinated with a single dose of ChAdOx1 or two doses of CoronaVac, we

isolated the B.1.1.7 lineage virus in Vero cells from a nasopharyngeal sample (ID: LTC7), and the isolate was designated B.1.1.7/LTC7. Cytopathic effects (CPE) in the Vero cell monolayer were observed 5 days post inoculation. Then, the cell culture supernatant was harvested, and the presence of SARS-CoV-2 RNA was confirmed by RT-qPCR targeting the envelope gene. The RT-qPCR protocol was used to confirm virus isolation through Ct values dropping from 22.5 (original sample) to 12.3 (first passage) and 12.5 (second passage). The titer of the B.1.1.7/LTC7 was 1.7×10^4 PFU/mL (first passage) and 1.5×10^6 PFU/mL (second passage). In addition, we confirmed the expected mutations by genome sequencing with coverage of 95.1% (first passage) and 92.6% (second passage) (Table S3). First and second passage sequences are available on GISAID with accession IDs EPI_ISL_2498612 and EPI_ISL_2498894. Subsequently, we tested the sera of individuals from the convent and the LCT facility by $PRNT_{50}$ assays against the B.1.1.7 isolate. Sera from symptomatic individuals and qPCR-positives who received a single dose of ChAdOx1 (n = 6) had ~3.4-fold higher neutralizing titers against the B.1.1.7 lineage isolate compared to sera of asymptomatic ChAdOx1-vaccinated individuals (n = 6) (Figure 4A). The $PRNT_{50}$ value for the B.1.1.7 isolate was ~1:80 in the sera of qPCR-positive individuals with mild COVID-19 who received two doses of CoronaVac (n = 17), whereas asymptomatic persons vaccinated with CoronaVac (n = 4) had $PRNT_{50}$ values >1:20 (n = 4) (Figure 4B).

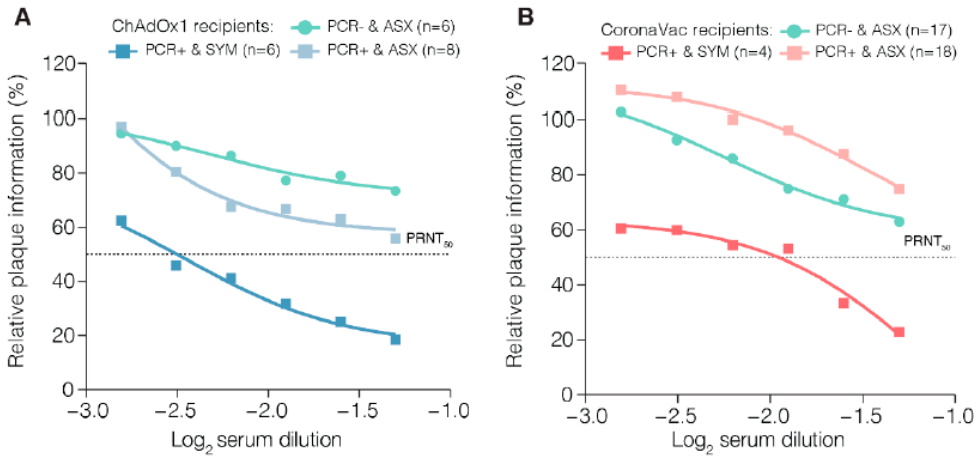


Figure 4. Neutralizing antibodies of sera from individuals vaccinated with ChAdOx1 and CoronaVac against B.1.1.7 isolate. (**A**) Sera from individuals from outbreak A in the convent (n = 20). (**B**) Sera from individuals from outbreak B in the long-term care facility (n = 39). The average value in log_2 dilutions of the tested sera are shown. $PRNT_{50}$ represents the dilution that showed a 50% reduction in plaque formation in comparison with a control without serum after three-parameter nonlinear regression analysis. The symbols represent the average of sera samples. Abbreviations: SYM, symptomatic. ASX, asymptomatic. PCR+, PCR-positive. PCR−, PCR-negative.

4. Discussion

We report two independent outbreaks involving local transmission of variant B.1.1.7 in individuals immunized with a single dose of an adenovirus-vectored COVID-19 vaccine or two doses of inactivated vaccine. Our data suggest that the B.1.1.7 lineage can infect individuals partially immunized with a single dose of ChAdOx1 or fully immunized with two doses of CoronaVac vaccine. Previous in vitro studies reported a reduction of 2.1–3.3-fold in the neutralizing titers of serum or plasma of immunized individuals (BNT162b2 or ChAdOx1 vaccines) against a B.1.1.7 isolate, compared to other SARS-CoV-2 lineages [6]. Plasma of CoronaVac-vaccinated persons after a single or two doses presented a lower neutralization capacity against P.1 isolates, another VOC that emerged and become the dominant lineage in Brazil [33]. In contrast, another study shows that plasma from individuals immunized with two doses of CoronaVac presents an effective neutralizing

capacity against the B.1.1.7 lineage [37]. Here, we observed higher neutralizing antibody levels in sera from vaccinated individuals infected with the B.1.1.7 lineage compared with vaccinated but uninfected persons, which might be a consequence of immune restimulation, promoting the expansion of memory B cells and enhancing IgG production, as well as a polyclonal stimulus for ChAdOx1 recipients [38]. In addition, we observed higher antibody levels in vaccinated, PCR-positive, symptomatic individuals than in vaccinated, asymptomatic, PCR-positive individuals, indicating that the neutralizing antibody levels may not reliably predict protection against mild COVID-19. In fact, other components of the immunological response are probably essential for SARS-CoV-2 restriction, such as T-cell-mediated immunity, which plays a crucial role in controlling SARS-CoV-2 infection [39].

For most individuals involved in the two outbreaks we studied, the transmission of infection was accounted for by close contact during prolonged periods, providing an opportunity for viral transmission. These social interactions are similar to large family gatherings, schools, workplaces, and churches [40–42]. To mitigate the impact in both outbreaks, several clinical and epidemiological measures were adopted, such as the protocol of use of personal protection equipment by care workers and resident people was reinforced; the number of people was limited by physical distancing in specific rooms and places of common use; daily monitoring of eventual symptomatic among care workers and/or resident people was performed. In addition, an active investigation was conducted to identify potential additional suspected cases and contact tracing. There were established different cohorts of confirmed cases, suspected cases, asymptomatic contacts, and the noncontact asymptomatic population; each group was isolated under specific conditions, such as isolation during the infective period or isolation while waiting for laboratorial results or quarantine during incubation period, always in different areas and sectors of their respective institutions. Respiratory samples for testing by RT-PCR were collected from every symptomatic respiratory case, including care workers, resident people, and their respective contacts during the outbreak's follow-up period. Visits from external people did not become authorized until the outbreaks were considered controlled. Based on phylogenetic analysis, our findings support that the outbreaks reported here were caused by two independent B.1.1.7 lineage transmission clusters. Alternatively, we cannot exclude the possibility that other lineages infected the other cases that were not sequenced, owing to the higher prevalence of the gamma variant at the time [43]. However, during the clusters of SARS-CoV-2 caused by lineage B.1.1.7 in this study, the variants of interest such as lambda and mu, as well as the delta VOC, were not described in Brazil.

The elderly have a higher risk of hospitalization and fatal COVID-19 cases [44,45]. Furthermore, infection with the B.1.1.7 lineage has been associated in some studies with increased risk of COVID-19 hospitalization and death [3,4]. Although the median age of vaccinated individuals in both clusters was between 73 and 77, 23 individuals were asymptomatic and 10 experienced mild COVID-19. Similarly, a previous study in the UK with participants aged ≥70 years and vaccinated with a single dose of BNT162b2 or ChAdOx1 showed the association of vaccination with a significant reduction in symptomatic disease and severity COVID-19 [46]. Another study in an LTC facility reported that a single dose of BNT162b2 did not prevent severe or fatal COVID-19 in the elderly (median age = 88 years old) 3 weeks after the initial vaccination [47]. We report here the first fatal COVID-19 case in an 84 year old individual who received the complete series of CoronaVac vaccination. Overall, our data suggest protective effects, against severe COVID-19 and death caused by the B.1.1.7 lineage, of a single dose of ChAdOx1 or two doses of CoronaVac.

A previous study in the UK reported that 90.15% of people who received the ChAdOx1 vaccine developed IgG antibodies within 3 weeks of the first dose [48]. In addition, the IgG seroconversion in the CoronaVac phase 1/2 clinical trial was between 83% and 100% depending on immunization dose [12]. Here, we reported similar findings with IgG (S-RDB) seroconversion of 95.5% and 83.3% of individuals immunized with the ChAdOx1 and CoronaVac vaccines, respectively. Since ChAdOx1 recipients develop humoral responses against the spike protein, the detection of total immunoglobulins specific against the SARS-

CoV-2 nucleocapsid in ChAdOx1 recipients indicates SARS-CoV-2 infection. On the other hand, we cannot serologically access the SARS-CoV-2 infection in CoronaVac recipients because this inactivated vaccine promotes a polyclonal response to both the spike and the nucleocapsid proteins, which impairs our ability to differentiate vaccinated from infected patients using serological assays [12]. In addition, the primary efficacy against symptomatic COVID-19 was 66.7% for ChAdOx1 and 50.7% for CoronaVac, both involving a two-dose regimen [49,50]. In the two clusters presented here, we observed symptomatic SARS-CoV-2 cases in 42.9% (six of 14) and 22.7% (five of 22) of individuals vaccinated with a single dose of ChAdOx1 and two doses of CoronaVac, respectively. Despite the important limitations, such as small size, limited sites, and individuals who belong to institutional settings and who are not community dwellers, these data suggest that the efficacy of these vaccines against severity and mortality is maintained outside the clinical trial setting.

5. Conclusions

In conclusion, our observational data based on two outbreaks with small sample size suggest that the SARS-CoV-2 B.1.1.7 lineage can infect individuals partially immune with a single dose of adenovirus-vectored or fully immunized with two doses of inactivated vaccines. Furthermore, many people remain susceptible to infection and probably contribute to chains of transmission through viral shedding. However, partial immunization with ChAdOx1 or the complete series of CoronaVac has some protective effect against severity and death caused by COVID-19. Therefore, these data underscore the critical importance of continued and rapid immunization to reduce the burden of COVID-19 in Brazil. Lastly, nonpharmaceutical interventions (e.g., masking and physical distancing), even in vaccinated persons, are needed to interrupt the SARS-CoV-2 transmission cycle until collective immunity is improved through vaccination.

Supplementary Materials: The following are available online at https://www.mdpi.com/article/10.3390/v13112127/s1: Figure S1. SARS-CoV-2 viral load and IgG (S-RDB) antibody levels from outbreaks reported in this study; Table S1. Information of individuals from SARS-CoV-2 outbreaks in the convent and the long-term care facility; Table S2. GISAID ID, authors, and submitting laboratory; Table S3. Information of genome sequencing of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 from SARS-CoV-2 outbreaks in convent and a long-term care facility, and B.1.1.7 isolate used in neutralizing antibody assays; Table S4. Single-nucleotide polymorphism for B.1.1.7 from SARS-CoV-2 outbreaks in convent and a long-term care facility.

Author Contributions: W.M.d.S., R.S.-C., F.G., R.N.A. and J.L.P.-M. conceptualized the study; W.M.d.S., G.F.S., S.P.M., M.R.A., R.S.-C., L.S.M., P.P.B., D.A.T.-T., K.B.-d.-S., P.L.P., J.F., N.S.B., J.C.O.M., V.A.C., D.M.C., M.L.M., S.B.-M., G.F.M., A.S.V., C.A., V.C.A., L.Z., A.S.F., M.A.-C., B.D.B., A.B.V.Z., R.N.A., F.G. and J.L.P.-M. contributed to acquisition of data; W.M.d.S., R.S.-C., L.S.M., F.G. and J.L.P.-M., contributed to data analysis; W.M.d.S., R.S.-C., M.R.A., S.C.W., N.R.F., F.G., R.N.A. and J.L.P.-M. contributed to data interpretation; W.M.d.S., R.S.-C. and J.L.P.-M. drafted the manuscript; W.M.d.S., M.R.A., R.S.-C., D.A.T.-T., R.N.A., F.R.S., R.E.M., F.G., S.C.W., N.R.F. and J.L.P.-M. revised the manuscript; W.M.d.S., F.R.S., R.E.M., N.R.F., E.C.S. and J.L.P.-M. acquired funding for the study. W.M.d.S., R.S.-C., R.N.A. and J.L.P.-M. accessed and verified the data underlying the study. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This study was supported by grants from São Paulo Research Foundation (FAPESP, grant nos. 2016/00194-8 and 2020/04558-0), Fundo de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão from UNICAMP (FAEPEX-UNICAMP, grant no. 2266/20). This study was also supported by MCTI through the Rede Corona-ômica Brazil/MCTI (funded by the Financier of Studies and Projects [FINEP] grant no. 01.20.0003.00), RedeVírus/MCTI (FINEP grant no. 01.20.0029.000462/20), and the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development, CNPq, grant no. 404096/2020-4). J.L.P.-M. is supported by CNPq grant no. 305628/2020-8. W.M.d.S. was supported by FAPESP, grant nos. 2017/13981-0, 2019/24251-9 and CNPq grant no. 408338/2018-0. R.S.C was funded by FAPESP, grant no. 2019/09704-7. B.D.B was supported by CNPq grant no. 401977/2020-0. S.P.M., G.F.S., K.B.d.-S., and P.L.P. were supported by FAPESP fellowships (2018/13645-3, 2018/10224-7, 2020/02159-0, and 2017/26908-0). M.R.A. and P.P.B. were supported by Coordination for the Improvement of Higher

Education Personnel (CAPES, grant nos. 88887.356527/2019-00, 88887.513267/2020-00) fellowships, whereas D.A.T.-T. and L.S.M. were supported by CNPq fellowships (grant nos. 141844/2019-1 and 382206/2020-7). N.R.F. was supported by a Wellcome Trust and Royal Society Sir Henry Dale Fellowship (grant no. 204311/Z/16/Z). This project was supported by the Medical Research Council and FAPESP-Brazil-UK Center for (Arbo)virus Discovery, Diagnosis, Genomics, and Epidemiology partnership award (MR/S0195/1 and FAPESP 2018/14389-0). S.C.W. was supported by NIH grant AI120942.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Institutional Ethics Committee of the University of Campinas, Brazil (protocol code CAEE 31170720.3.0000.5404 approved on 20 May 2020 and amended on 29 April 2021).

Informed Consent Statement: Patient consent was waived due to the characteristics of public health surveillance this study. This was previously approved by the Institutional Ethics Committee of the University of Campinas, Brazil.

Data Availability Statement: Standard R-packages or Prism software were used to produce results for this analysis. No custom code was developed.

Acknowledgments: We thank Thermo Fisher Scientific, which kindly provided an EVOS inverted microscope for the BSL3 facility at Emerging Viruses Laboratory, as well as the UNICAMP-Task-Force against COVID-19 that facilitated this study. Team of professionals from Vigilância em Saúde do Distrito de Saúde Leste, DEVISA, Campinas for their support in obtaining clinical and epidemiological information related to the outbreaks. Lastly, the Brazilian Ministry of Science, Technology, and Innovation (MCTI) and all members of the Corona-ômica network are thanked for their support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

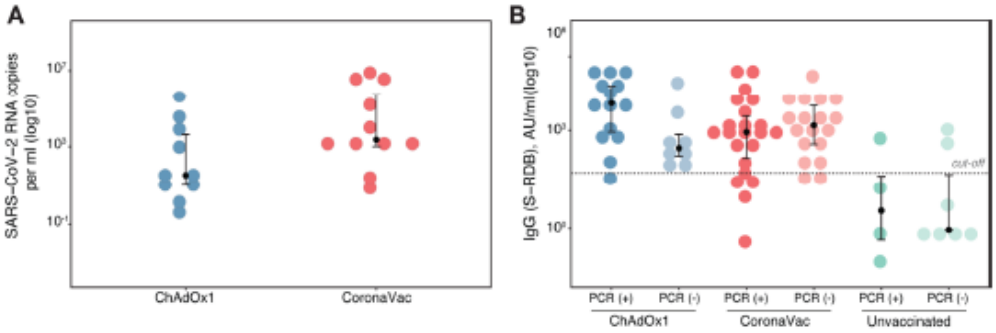
1. O'Toole, Á.; Hill, V.; Pybus, O.G.; Watts, A.; Bogoch, I.I.; Khan, K. Tracking the international spread of SARS-CoV-2 lineages B.1.1.7 and B.1.351/501Y-V2. *Wellcome Open Res.* **2021**, *6*, 121. [PubMed]
2. Davies, N.G.; Abbott, S.; Barnard, R.C.; Jarvis, C.I.; Kucharski, A.J.; Munday, J.D.; Pearson, C.A.B.; Russell, T.W.; Tully, D.C.; Washburne, A.D.; et al. Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. *Science* **2021**, *372*, 6538. [CrossRef] [PubMed]
3. Graham, M.S.; Sudre, C.H.; May, A.; Antonelli, M.; Murray, B.; Varsavsky, T.; Kläser, K.; Canas, L.S.; Molteni, E.; Modat, M.; et al. Changes in symptomatology, reinfection, and transmissibility associated with the SARS-CoV-2 variant B.1.1.7: An ecological study. *Lancet Public Health* **2021**, *6*, e335–e345. [CrossRef]
4. Davies, N.G.; Jarvis, C.I.; CMMID COVID-19 Working Group; Edmunds, W.J.; Jewell, N.P.; Diaz-Ordaz, K.; Keogh, R.H. Increased mortality in community-tested cases of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7. *Nature* **2021**, *593*, 270–274. [CrossRef] [PubMed]
5. Collier, D.A.; De Marco, A.; Ferreira, I.A.T.M.; Meng, B.; Datir, R.P.; Walls, A.C.; Kemp, S.A.; Bassi, J.; Pinto, D.; Silacci-Fregni, C.; et al. Sensitivity of SARS-CoV-2 B.1.1.7 to mRNA vaccine-elicited antibodies. *Nature* **2021**, *593*, 136–141. [CrossRef] [PubMed]
6. Supasa, P.; Zhou, D.; Dejnirattisai, W.; Liu, C.; Mentzer, A.J.; Ginn, H.M.; Zhao, Y.; Duyvesteyn, H.M.; Nutalai, R.; Tuekprakhon, A.; et al. Reduced neutralization of SARS-CoV-2 B.1.1.7 variant by convalescent and vaccine sera. *Cell* **2021**, *184*, 2201–2211.e7. [CrossRef] [PubMed]
7. Chen, R.E.; Zhang, X.; Case, J.B.; Winkler, E.S.; Liu, Y.; VanBlargan, L.A.; Liu, J.; Errico, J.M.; Xie, X.; Suryadevara, N.; et al. Resistance of SARS-CoV-2 variants to neutralization by monoclonal and serum-derived polyclonal antibodies. *Nat. Med.* **2021**, *27*, 717–726. [CrossRef] [PubMed]
8. Xie, X.; Liu, Y.; Liu, J.; Zhang, X.; Zou, J.; Fontes-Garfias, C.R.; Xia, H.; Swanson, K.A.; Cutler, M.; Cooper, D.; et al. Neutralization of SARS-CoV-2 spike 69/70 deletion, E484K and N501Y variants by BNT162b2 vaccine-elicited sera. *Nat. Med.* **2021**, *27*, 60–621. [CrossRef] [PubMed]
9. Liu, Y.; Liu, J.; Xia, H.; Zhang, X.; Fontes-Garfias, C.R.; Swanson, K.A.; Cai, H.; Sarkar, R.; Chen, W.; Cutler, M.; et al. Neutralizing Activity of BNT162b2-Elicited Serum. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *384*, 1466–1468. [CrossRef] [PubMed]
10. Claro, I.M.; da Silva Sales, F.C.; Ramundo, M.S.; Candido, D.S.; Silva, C.A.M.; de Jesus, J.G.; Manuli, E.R.; de Oliveira, C.M.; Scarpelli, L.; Campana, G.; et al. Local Transmission of SARS-CoV-2 Lineage, B.1.1.7, Brazil, December 2020. *Emerg. Infect. Dis.* **2021**, *27*, 970–972. [CrossRef] [PubMed]
11. Moreira, F.R.R.; Bonfim, D.M.; Zauli, D.A.G.; Silva, J.P.; Lima, A.B.; Malta, F.S.V.; Ferreira, A.C.S.; Pardini, V.C.; Magalhães, W.C.S.; Queiroz, D.C.; et al. Epidemic Spread of SARS-CoV-2 Lineage, B.1.1.7 in Brazil. *Viruses* **2021**, *13*, 984. [CrossRef] [PubMed]
12. Zhang, Y.; Zeng, G.; Pan, H.; Li, C.; Hu, Y.; Chu, K.; Han, W.; Chen, Z.; Tang, R.; Yin, W.; et al. Safety, tolerability, and immunogenicity of an inactivated SARS-CoV-2 vaccine in healthy adults aged 18-59 years: A randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 1/2 clinical trial. *Lancet Infect. Dis.* **2021**, *21*, 181–192. [CrossRef]

13. Ramasamy, M.N.; Minassian, A.M.; Ewer, K.J.; Flaxman, A.L.; Folegatti, P.M.; Owens, D.R.; Voysey, M.; Aley, P.K.; Angus, B.; Babbage, G.; et al. Safety and immunogenicity of ChAdOx1 nCoV-19 vaccine administered in a prime-boost regimen in young and old adults (COV002): A single-blind, randomised, controlled, phase 2/3 trial. *Lancet* **2021**, *396*, 1979–1993. [CrossRef]
14. Prendecki, M.; Clarke, C.; Brown, J.; Cox, A.; Gleeson, S.; Guckian, M.; Randell, P.; Pria, A.D.; Lightstone, L.; Xu, X.N.; et al. Effect of previous SARS-CoV-2 infection on humoral and T-cell responses to single-dose BNT162b2 vaccine. *Lancet* **2021**, *397*, 1178–1181. [CrossRef]
15. Saad-Roy, C.M.; Morris, S.E.; Metcalf, C.J.E.; Mina, M.J.; Baker, R.E.; Farrar, J.; Holmes, E.C.; Pybus, O.G.; Graham, A.L.; Levin, S.A.; et al. Epidemiological and evolutionary considerations of SARS-CoV-2 vaccine dosing regimes. *Science* **2021**, *372*, 363–370. [CrossRef] [PubMed]
16. Mahase, E. COVID-19: Medical community split over vaccine interval policy as WHO recommends six weeks. *BMJ* **2021**, *372*, n226. [CrossRef] [PubMed]
17. Saadat, S.; Tehrani, Z.R.; Logue, J.; Newman, M.; Frieman, M.B.; Harris, A.D.; Sajadi, M.M. Binding and Neutralization Antibody Titers After a Single Vaccine Dose in Health Care Workers Previously Infected With SARS-CoV-2. *JAMA* **2021**, *325*, 1467–1469. [CrossRef] [PubMed]
18. Moghadas, S.M.; Vilches, T.N.; Zhang, K.; Nourbakhsh, S.; Sah, P.; Fitzpatrick, M.C.; Galvani, A.P. Evaluation of COVID-19 vaccination strategies with a delayed second dose. *PLoS Biol.* **2021**, *19*, e3001211. [CrossRef] [PubMed]
19. Juthani, P.V.; Gupta, A.; Borges, K.A.; Price, C.C.; Lee, A.I.; Won, C.H.; Chun, H.J. Hospitalisation among vaccine breakthrough COVID-19 infections. *Lancet Infect. Dis.* **2021**. [CrossRef]
20. Rzymski, P.; Pazgan-Simon, M.; Simon, K.; Łapiński, T.; Zarębska-Michaluk, D.; Szczepańska, B.; Chojnicki, M.; Mozer-Lisewska, I.; Flisiak, R. Clinical Characteristics of Hospitalized COVID-19 Patients Who Received at Least One Dose of COVID-19 Vaccine. *Vaccines* **2021**, *9*, 781. [CrossRef] [PubMed]
21. Baltas, I.; Boshier, F.A.T.; Williams, C.A.; Bayzid, N.; Cotic, M.; Guerra-Assunção, J.A.; Irish-Tavares, D.; Haque, T.; Hart, J.; Roy, S.; et al. Post-vaccination COVID-19: A case-control study and genomic analysis of 119 breakthrough infections in partially vaccinated individuals. *Clin. Infect. Dis.* **2021**, ciab714. [CrossRef] [PubMed]
22. Corman, V.M.; Landt, O.; Kaiser, M.; Molenkamp, R.; Meijer, A.; Chu, D.K.; Bleicker, T.; Brünink, S.; Schneider, J.; Schmidt, M.L.; et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveill.* **2020**, *25*, 2000045. [CrossRef] [PubMed]
23. Candido, D.S.; Claro, I.M.; de Jesus, J.G.; Souza, W.M.; Moreira, F.R.R.; Dellicour, S.; Mellan, T.A.; du Plessis, L.; Pereira, R.H.M.; Sales, F.C.S.; et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science* **2020**, *369*, 1255–1260. [CrossRef] [PubMed]
24. Faria, N.R.; Mellan, T.A.; Whittaker, C.; Claro, I.M.; Candido, D.D.S.; Mishra, S.; Crispim, M.A.E.; Sales, F.C.S.; Hawryluk, I.; McCrone, J.T.; et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science* **2021**, *372*, 815–821. [CrossRef] [PubMed]
25. Sahlin, K.; Mäkinen, V. Accurate spliced alignment of long RNA sequencing reads. *Bioinformatics* **2021**, btab540. [CrossRef] [PubMed]
26. Li, H.; Handsaker, B.; Wysoker, A.; Fennell, T.; Ruan, J.; Homer, N.; Marth, G.; Abecasis, G.; Durbin, R.; 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 2078–2079. [CrossRef] [PubMed]
27. Rambaut, A.; Holmes, E.C.; O'Toole, Á.; Hill, V.; McCrone, J.T.; Ruis, C.; du Plessis, L.; Pybus, O.G. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. *Nat. Microbiol.* **2020**, *5*, 1403–1407. [CrossRef] [PubMed]
28. O'Toole, Á.; Scher, E.; Underwood, A.; Jackson, B.; Hill, V.; McCrone, J.T.; Colquhoun, R.; Ruis, C.; Abu-Dahab, K.; Taylor, B. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evolution.* **2021**, *7*, veab064. [CrossRef] [PubMed]
29. Katoh, K.; Standley, D.M. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: Improvements in performance and usability. *Mol. Biol. Evol.* **2013**, *30*, 772–780. [CrossRef] [PubMed]
30. Nguyen, L.T.; Schmidt, H.A.; Von Haeseler, A.; Minh, B.Q. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* **2015**, *32*, 268–274. [CrossRef] [PubMed]
31. Kalyaanamoorthy, S.; Minh, B.Q.; Wong, T.K.F.; Von Haeseler, A.; Jermiin, L.S. ModelFinder: Fast model selection for accurate phylogenetic estimates. *Nat. Methods* **2017**, *14*, 587–589. [CrossRef] [PubMed]
32. Martin, D.P.; Murrell, B.; Golden, M.; Khoosal, A.; Muhire, B. RDP4: Detection and analysis of recombination patterns in virus genomes. *Virus Evol.* **2015**, *1*, vev003. [CrossRef] [PubMed]
33. Souza, W.M.; Amorim, M.R.; Sesti-Costa, R.; Coimbra, L.D.; Brunetti, N.S.; Toledo-Teixeira, D.A.; de Souza, G.F.; Muraro, S.P.; Parise, P.L.; Barbosa, P.P.; et al. Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: An immunological study. *Lancet Microbe.* **2021**, *2*, e527–e535. [CrossRef]
34. Bryan, A.; Pepper, G.; Wener, M.H.; Fink, S.L.; Morishima, C.; Chaudhary, A.; Jerome, K.R.; Mathias, P.C.; Greninger, A.L. Performance Characteristics of the Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG Assay and Seroprevalence in Boise, Idaho. *J. Clin. Microbiol.* **2020**, *58*, e00941-20. [CrossRef] [PubMed]
35. Abbott. *AdviseDx SARS-CoV-2 IgG II*; Abbott: Chicago, IL, USA, 2021; p. 11.

36. Sadoff, J.; Gray, G.; Vandebosch, A.; Cárdenas, V.; Shukarev, G.; Grinsztejn, B.; Goepfert, P.A.; Truyers, C.; Fennema, H.; Spiessens, B.; et al. Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *384*, 2187–2201. [CrossRef] [PubMed]
37. Chen, Y.; Shen, H.; Huang, R.; Tong, X.; Wu, C. Serum neutralising activity against SARS-CoV-2 variants elicited by CoronaVac. *Lancet Infect. Dis.* **2021**, *21*, 1071–1072. [CrossRef]
38. Gaebler, C.; Wang, Z.; Lorenzi, J.C.C.; Muecksch, F.; Finkin, S.; Tokuyama, M.; Cho, A.; Jankovic, M.; Schaefer-Babajew, D.; Oliveira, T.Y.; et al. Evolution of antibody immunity to SARS-CoV-2. *Nature* **2021**, *591*, 639–644. [CrossRef] [PubMed]
39. Weingarten-Gabbay, S.; Klaeger, S.; Sarkizova, S.; Pearlman, L.R.; Chen, D.-Y.; Gallagher, K.M.E.; Bauer, M.R.; Taylor, H.B.; Dunn, W.A.; Tarr, C.; et al. Profiling SARS-CoV-2 HLA-I peptidome reveals T cell epitopes from out-of-frame ORFs. *Cell* **2021**, *184*, 3962–3980. [CrossRef] [PubMed]
40. Chan, J.F.; Yuan, S.; Kok, K.H.; To, K.K.; Chu, H.; Yang, J.; Xing, F.; Liu, J.; Yip, C.C.; Poon, R.W.; et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: A study of a family cluster. *Lancet* **2020**, *395*, 514–523. [CrossRef]
41. Qiu, H.; Wu, J.; Hong, L.; Luo, Y.; Song, Q.; Chen, D. Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: An observational cohort study. *Lancet Infect. Dis.* **2020**, *20*, 689–696. [CrossRef]
42. Yong, S.E.F.; Anderson, D.E.; Wei, W.E.; Pang, J.; Chia, W.N.; Tan, C.W.; Teoh, Y.L.; Rajendram, P.; Toh, M.P.H.S.; Poh, C.; et al. Connecting clusters of COVID-19: An epidemiological and serological investigation. *Lancet Infect. Dis.* **2020**, *20*, 809–815. [CrossRef]
43. Wolf, J.M.; Kipper, D.; Borges, G.R.; Streck, A.F.; Lunge, V.R. Temporal spread and evolution of SARS-CoV-2 in the second pandemic wave in Brazil. *J. Med. Virol.* **2021**. [CrossRef] [PubMed]
44. de Souza, W.M.; Buss, L.F.; Candido, D.D.S.; Carrera, J.P.; Li, S.; Zarebski, A.E.; Pereira, R.H.M.; Prete, C.A., Jr.; de Souza-Santos, A.A.; Parag, K.V.; et al. Epidemiological and clinical characteristics of the COVID-19 epidemic in Brazil. *Nat. Hum. Behav.* **2020**, *4*, 856–865. [CrossRef] [PubMed]
45. Onder, G.; Rezza, G.; Brusaferro, S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA* **2020**, *323*, 1775–1776. [CrossRef] [PubMed]
46. Lopez Bernal, J.; Andrews, N.; Gower, C.; Robertson, C.; Stowe, J.; Tessier, E.; Simmons, R.; Cottrell, S.; Roberts, R.; O'Doherty, M.; et al. Effectiveness of the Pfizer-BioNTech and Oxford-AstraZeneca vaccines on COVID-19 related symptoms, hospital admissions, and mortality in older adults in England: Test negative case-control study. *BMJ* **2021**, *373*, n1088. [CrossRef] [PubMed]
47. Westhölter, D.; Taube, C. SARS-CoV-2 outbreak in a long-term care facility after vaccination with BNT162b2. *Clin. Infect. Dis.* **2021**, *27*, 1537–1539.
48. Shrotri, M.; Fragaszy, E.; Geismar, C.; Nguyen, V.; Beale, S.; Braithwaite, I.; Byrne, T.E.; Fong, W.L.E.; Kovar, J.; Navaratnam, A.M.; et al. Spike-antibody responses following first and second doses of ChAdOx1 and BNT162b2 vaccines by age, gender, and clinical factors—A prospective community cohort study (Virus Watch). *medRxiv* **2021**. [CrossRef]
49. Voysey, M.; Costa Clemens, S.A.; Madhi, S.A.; Weckx, L.Y.; Folegatti, P.M.; Aley, P.K.; Angus, B.; Baillie, V.L.; Barnabas, S.L.; Bhorat, Q.E.; et al. Single-dose administration and the influence of the timing of the booster dose on immunogenicity and efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine: A pooled analysis of four randomised trials. *Lancet* **2021**, *397*, 881–891. [CrossRef]
50. Palacios, R.; Batista, A.P.; Albuquerque, C.S.N.; Patino, E.G.; Santos, J.P.; Conde, M.T.R.P.; Piorelli, R.O. Efficacy and Safety of a COVID-19 Inactivated Vaccine in Healthcare Professionals in Brazil: The PROFISCOV Study. *SSRN* **2021**. [CrossRef]

Material Suplementar - Artigo 4

Supplementary appendix



Supplementary Figure S 1. SARS-CoV-2 viral load and IgG(S-RDB) antibody levels from outbreaks reported in this study. (**A**) SARS-CoV-2 viral load between ChAdOx1 (n=10) and CoronaVac (n=11) recipients determined by RT-qPCR for the envelope gene. Statistical difference was determined by Wilcoxon signed-rank tests followed by Dunn-Bonferroni post hoc correction. **(B)** IgG(S-RBD) antibody response to sera of ChAdOx1 and CoronaVac recipients and unvaccinated against SARS-CoV-2. Black dots display the median values with the interquartile range from the first and third quartile (lower and upper whiskers). Statistical differences were assessed with Kruskal-Wallis test followed by a post hoc Dunn's correction for multiple testing.

Table S1. Information of individuals from SARS-CoV-2 outbreaks in the convent and the long-term care facility.

ID	Age	Sex	Category	Leaving	Symptom onset date	Vaccinated	Vaccine type	1° dose	2° dose	Sample collection	RT-qPCR	Viral load	IgG (S-RDB) (AU/ml)	NP antibody	Underlying medical conditions
C01	30	F	resident	yes	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	24/03/2021	(-)	U	5.1	(-)	none
C02	79	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	U	774.5	(-)	diabetes; depression; dyslipidemia; previous femur fracture
C03	77	F	resident	yes	20/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	3.46E+01	13677.5	(-)	none
C04	87	F	resident	no	01/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	9.27E+02	54945.9	(-)	cardiopathy; hypertension; diabetes
C05	82	F	resident	no	15/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	3.33E+04	5964	(-)	Hypertension
C06	79	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	8.89E+00	68120.3	3.4	dementia
C07	85	F	resident	no	18/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	7.73E+03	>80000	(-)	cardiopathy; hypertension; diabetes
C08	83	F	resident	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	480.2	(-)	UNAVB
C09	84	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	1.29E+01	34.2	(-)	parkinsonism
C10	32	F	resident	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	U	1113	(-)	none
C11	82	F	resident	no	22/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	4.05E+05	484.8	(-)	none
C12	69	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	64.6	(-)	UNAVB
C13	59	F	resident	yes	19/03/2021	vaccinated	Johnson	trial3	N/A	24/03/2021	(+)	8.72E+00	1.3	(-)	dyslipidemia
C14	97	F	resident	no	01/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	171.7	(-)	UNAVB
C15	77	F	resident	yes	01/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	218.5	(-)	cardiopathy
C16	92	F	resident	no	21/03/2021	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	3.35E+01	26035.5	(-)	none
C17	87	F	resident	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	U	107.9	(-)	psychiatric disorders
C18	49	F	resident	yes	13/03/2021	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	24/03/2021	(+)	U	559.3	(-)	hypothyroidism
C19	47	F	cleaner	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	118	(-)	none
C20	43	M	driver	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	U	4394.3	(-)	none
C21	57	F	concierge	yes	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	24/03/2021	(-)	U	1047.7	74.7	UNAVB
C22	31	F	general services	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	3460	(-)	UNAVB
C23	53	F	cleaner	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	1.36E+00	7410.5	8.0	None
C24	54	F	caregiver	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	31311.3	257.1	UNAVB
C25	59	F	cooker	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(-)	U	371	(-)	UNAVB
C26	38	F	concierge	yes	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	05/02/2021	N/A	24/03/2021	(+)	4.00E-01	25383.8	40.5	None
LTC1	87	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	460.6	(-)	Parkinson disease; diabetes; hypothyroidism
LTC2	96	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	139.7	N/A	hypertension; osteoarthritis
LTC3	65	F	resident	no	26/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	9.51E+03	60478.9	N/A	dementia; hypertension
LTC4	93	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	2.52E+01	9237	N/A	dementia; hypertension; hypothyroidism; dyslipidemia
LTC5	90	M	resident	no	27/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	2.26E+03	>80000	N/A	dementia; hypertension; gout
LTC6	85	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	0.4	N/A	dementia; hypertension; hypothyroidism
LTC7	69	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	7.85E+06	325.1	N/A	cognitive impairment; hypertension
LTC8	88	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	1.60E+03	768.1	N/A	depression; hypothyroidism; previous femur fracture
LTC9	86	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	8290.7	N/A	diabetes; depression; dyslipidemia; previous femur fracture
LTC10	94	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	49.7	N/A	osteoarthritis; hypertension
LTC11	70	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	1.40E+05	1355.9	N/A	depression; epilepsy; astrocytoma
LTC12	82	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	7.30E+00	99.5	N/A	dementia; hypertension

LTC13	91	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	324.9	N/A	dementia; depression
LTC14	77	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	2.70E+06	368.9	N/A	dementia; hypertension; previous ischemic stroke
LTC15	97	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	4.95E+06	737	N/A	dementia; hypertension
LTC16	95	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	1809.4	N/A	dementia; hypertension; hypothyroidism
LTC17	89	F	resident	no	27/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	1433.4	N/A	cardiopathy
LTC18	69	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	657.8	N/A	UNAVB
LTC19	108	F	resident	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(+)	7.17E+04	0.1	N/A	peripheral artery disease
LTC20	84	M	resident	no	25/03/2021	vaccinated	CoronaVac	19/02/2021	04/03/2021	UNDONE	UNDONE	U	UNDONE	N/A	dementia
LTC21	85	F	resident	no	17/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	11176.6	N/A	dementia; depression; anemia
LTC22	66	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	29	N/A	Down syndrome; diabetes
LTC23	92	F	resident	no	23/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	50709.5	N/A	dementia; depression; hypertension; dyslipidemia
LTC24	95	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	3052.9	N/A	dementia; cardiopathy
LTC25	77	F	resident	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(-)	U	0.9	N/A	dementia; parkinsonism; hypothyroidism
LTC26	78	F	resident	no	05/03/2021	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	2.55E+01	1089.2	N/A	depression; hypertension; chronic obstructive pulmonary disease; dyslipidemia; previous femur fracture
LTC27	68	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	9.62E+02	19851.9	N/A	dementia
LTC28	58	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	1762.1	N/A	down syndrome; hypertension
LTC29	76	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	7494.4	N/A	dementia; diabetes;

															depression; dyslipidemia
LTC30	79	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	20.7	N/A	dementia; dyslipidemia
LTC31	89	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	42.5	N/A	dementia; dyslipidemia
LTC32	87	M	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	UNDONE	N/A	depression; hypertension
LTC33	76	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	21/03/2021	29/03/2021	(+)	U	3589.8	N/A	chronic obstructive pulmonary disease; hypertension; schizophrenia
LTC34	81	F	resident	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	1145.8	N/A	dementia; seizures
LTC35	74	F	resident	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(+)	U	0.7	N/A	dementia; depression
LTC36	79	M	resident	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(+)	U	17.3	N/A	dementia; hypertension
LTC37	44	F	caregiver	no	25/03/2021	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	UNDONE	UNDONE	U	UNDONE	N/A	none
LTC38	36	F	nurse	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	24/02/2021	29/03/2021	(-)	U	76.2	N/A	none
LTC39	35	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	ChAdOx1	25/01/2021	N/A	29/03/2021	(-)	U	1053.9	N/A	none
LTC40	53	F	nursing technique	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(-)	U	0.9	N/A	UNAVB
LTC41	27	F	caregiver	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(-)	U	0.8	N/A	UNAVB
LTC42	56	F	cooker	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(-)	U	396	N/A	UNAVB
LTC43	38	F	nursing technique	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	983.2	N/A	UNAVB
LTC44	29	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	855.7	N/A	UNAVB
LTC45	52	F	cleaner	no	asymptomatic	unvaccinated	N/A	N/A	N/A	29/03/2021	(-)	U	0.5	N/A	UNAVB
LTC46	35	F	nursing technique	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	2955.7	N/A	UNAVB
LTC47	42	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	8.83E+02	1296.7	N/A	hypertension
LTC48	21	F	nursing technique	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	9.2	N/A	obesity
LTC49	46	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	32.7	N/A	none
LTC50	32	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(+)	U	1009.6	N/A	none
LTC51	34	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	10888.3	N/A	UNAVB
LTC52	35	F	caregiver	no	asymptomatic	vaccinated	CoronaVac	07/02/2021	28/02/2021	29/03/2021	(-)	U	7687.3	N/A	none

Legend: F, female. M, male. N/A, not applicable. U, undetectable. (+), positive. (-), negative. UNDONE, unperformed. UNAVBL, unavailable. NP antibody, total antibodies against nucleoprotein of SARS-CoV-2.

Informações adicionais e dados dos genomas utilizados na construção da arvore filogenética disponíveis em: https://www.mdpi.com/article/10.3390/v13112127/s1

Capítulo IV: Infecção persistente da variante Gamma em paciente imunocomprometido

Neste último capítulo, foi estudado a evolução de um caso de infecção persistente pela VOC Gamma em um paciente imunocomprometido em decorrência de um polimorfismo no gene da família NFκB1 [Q202X (c.604 CT)]. Essa variação genética ocasiona um fenótipo de imunodeficiência variável comum (CVID) com deficiência na produção de células B e consequentemente, na produção de anticorpos. Não existe um tratamento específico para infecções persistentes ou crônicas em pacientes imunocomprometidos, os quais podem permanecer infectados por meses. No presente estudo de caso, a infecção durou cerca de 4 meses, com teste positivo mesmo após a infusão de plasma de doadores convalescentes. O primeiro teste negativo ocorreu apenas após a ingestão de leite materno de doadoras vacinadas. Dessa forma, levanta-se a hipótese da capacidade protetora da imunoglobulina IgA, não apenas da IgG, frente a infecções por SARS-CoV-2. E juntamente com a infusão de plasma, a ingestão de leite materno com anticorpos anti-SARS-CoV-2 é apresentada como uma opção de tratamento frente à infecção persistente por esse vírus.

Além disso, o genoma viral foi sequenciado no LEVE a partir de 3 amostras coletadas em diferentes momentos do curso da infecção, a fim de identificar a linhagem e a presença de mutações que indicassem evolução do vírus no paciente. Curiosamente, não foram identificadas evidências de evolução viral na paciente (*intra host*). Além disso, nenhum sintoma grave foi reportado, apesar da condição de risco apresentada pelo paciente, levantando também questionamentos sobre o impacto do sistema imune inato e adaptativo no desenvolvimento de doença grave e da tempestade de citocinas que ocorre em alguns casos. O estudo foi publicado em maio de 2022 na revista *Viruses* (Artigo 5).

Artigo 5. Sabino, J. S.; Amorim, M. R., de Souza, W. M. *et al.*, 2022

viruses

MDPI

Case Report

Clearance of Persistent SARS-CoV-2 RNA Detection in a NFκB-Deficient Patient in Association with the Ingestion of Human Breast Milk: A Case Report

Janine S. Sabino [1,†], Mariene R. Amorim [2,†], William M. de Souza [3,†], Lia F. Marega [1], Luciana S. Mofatto [2], Daniel A. Toledo-Teixeira [2], Julia Forato [2], Rodrigo G. Stabeli [4,5], Maria Laura Costa [6], Fernando R. Spilki [7], Ester C. Sabino [8,9], Nuno R. Faria [9,10,11], Bruno D. Benites [12], Marcelo Addas-Carvalho [12], Raquel S. B. Stucchi [13], Dewton M. Vasconcelos [14], Scott C. Weaver [3,15], Fabiana Granja [2,16,†], José Luiz Proenca-Modena [2,17,18,*,†] and Maria Marluce dos S. Vilela [1,*,†]

1 Laboratory of Pediatric Immunology, Center for Investigation in Pediatrics, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas 13083-887, Brazil; janine@unicamp.br (J.S.S.); l150152@dac.unicamp.br (L.F.M.)
2 Laboratory of Emerging Viruses, Department of Genetics, Microbiology and Immunology, Institute of Biology, University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil; mariene.ramorim@gmail.com (M.R.A.); luciana.mofatto@gmail.com (L.S.M.); teixeiradatt@gmail.com (D.A.T.-T.); foratojulia@gmail.com (J.F.); fabi.granja@yahoo.com.br (F.G.)
3 World Reference Center for Emerging Viruses, Department of Microbiology and Immunology, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA; wmdesouz@utmb.edu (W.M.d.S.); sweaver@utmb.edu (S.C.W.)
4 Oswaldo Cruz Foundation (Fiocruz-SP), Ribeirão Preto 14049-900, Brazil; rodrigo.stabeli@fiocruz.br
5 Department of Public Health Emergency, Preparedness and Disaster, PAHO/WHO, Brasilia 70312-970, Brazil
6 Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medical Sciences, University of Campinas, Campinas 13083-887, Brazil; mlaura@unicamp.br
7 One Health Laboratory, Feevale University, Novo Hamburgo 93510-235, Brazil; fernandors@feevale.br
8 Tropical Medicine Institute, Medical School, University of São Paulo, São Paulo 5403-907, Brazil; sabinoec@gmail.com
9 Department of Infectious and Parasitic Disease, Medical School, University of São Paulo, São Paulo 05403-000, Brazil; n.faria@imperial.ac.uk
10 Department of Zoology, University of Oxford, Oxford OX1 2JD, UK
11 MRC Centre for Global Infectious Disease Analysis, J-IDEA, Imperial College London, London SW7 2AZ, UK
12 Hematology and Transfusion Medicine Center, University of Campinas, Campinas 13083-878, Brazil; benites@unicamp.br (B.D.B.); maddas@unicamp.br (M.A.-C.)
13 Division of Infectious Diseases, University of Campinas, Campinas 13083-887, Brazil; stucchi@unicamp.br
14 Laboratory of Investigation in Dermatology and Immunodeficiencies, Department of Dermatology, Medical School, University of São Paulo, São Paulo 05403-000, Brazil; dmvascon@usp.br
15 Institute for Human Infection and Immunity, University of Texas Medical Branch, Galveston, TX 77555, USA
16 Biodiversity Research Centre, Federal University of Roraima, Boa Vista 72000-000, Brazil
17 Experimental Medicine Research Cluster (EMRC), University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil
18 Hub of Global Health (HGH), University of Campinas, Campinas 13083-862, Brazil
* Correspondence: jlmodena@unicamp.br (J.L.P.-M.); marluce@unicamp.br (M.M.d.S.V.); Tel.: +55-1935216259 (J.L.P.-M.); +55-1935218973 (M.M.d.S.V.)
† These authors contributed equally to this work.

Abstract: Currently, there are no evidence-based treatment options for long COVID-19, and it is known that SARS-CoV-2 can persist in part of the infected patients, especially those with immunosuppression. Since there is a robust secretion of SARS-CoV-2-specific highly-neutralizing IgA antibodies in breast milk, and because this immunoglobulin plays an essential role against respiratory virus infection in mucosa cells, being, in addition, more potent in neutralizing SARS-CoV-2 than IgG, here we report the clinical course of an NFκB-deficient patient chronically infected with the SARS-CoV-2 Gamma variant, who, after a non-full effective treatment with plasma infusion, received breast milk from a vaccinated mother by oral route as treatment for COVID-19. After such treatment, the symptoms improved, and the patient was systematically tested negative for SARS-CoV-2. Thus, we hypothesize that IgA and IgG secreted antibodies present in breast milk could be useful to treat persistent SARS-CoV-2 infection in immunodeficient patients.

check for updates

Citation: Sabino, J.S.; Amorim, M.R.; de Souza, W.M.; Marega, L.F.; Mofatto, L.S.; Toledo-Teixeira, D.A.; Forato, J.; Stabeli, R.G.; Costa, M.L.; Spilki, F.R.; et al. Clearance of Persistent SARS-CoV-2 RNA Detection in a NFκB-Deficient Patient in Association with the Ingestion of Human Breast Milk: A Case Report. *Viruses* **2022**, *14*, 1042. https://doi.org/10.3390/v14051042

Academic Editors: Carla Varanda and Patrick Materatski

Received: 11 April 2022
Accepted: 6 May 2022
Published: 13 May 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Keywords: persistent SARS-CoV-2 infection; immunosuppression; NFκB-deficiency; breast milk; IgA

1. Introduction

After more than two years since the beginning of the Coronavirus disease (COVID-19) pandemic, there have been several reports of patients with persistent symptoms, a condition known as "long COVID". These symptoms include fatigue, breathlessness, hair loss, myalgia, and neurocognitive difficulties [1]. The mechanisms and risk factors associated with long COVID are not fully understood, although it is known that severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) can persist in part of the infected patients, especially those with immunosuppression [2]. However, the association between SARS-CoV-2 persistent infection and long COVID-19 has not been fully clarified. Immunoglobulin A (IgA) antibodies present on mucosal surfaces play a crucial role against respiratory viruses, such as Influenza, and have been associated with the efficacy of intranasal vaccines [3,4]. IgA-specific antibodies may also play a key role in the immune response to COVID-19. It has been shown that IgA dimers are more potent in neutralizing SARS-CoV-2 than immunoglobulin G (IgG) monomers [5] since they peak before IgG antibodies in serum samples, thus representing an early potent neutralizing agent against SARS-CoV-2 [6]. IgA and IgG antibodies against SARS-CoV-2 can be found in the breast milk of vaccinated women or women previously infected with COVID-19 and have shown neutralizing capacity in vitro [7].

This study reports the effect of plasma infusion followed by breast milk ingestion as a form of treatment for persistent SARS-CoV-2 infection in a patient with a common variable immunodeficiency (CVID) phenotype, with polymorphism in the NFκB1 gene [Q202X (c.604 C > T)], which is usually associated with immunosuppression and severe B-cell and antibody production deficiency [8]. The patient had a history of recurrent infections, hypogammaglobulinemia, low IgG levels, absence of IgA, neutropenia, and thrombocytopenia since age 7 and was submitted to splenectomy with improvement in neutropenia and thrombocytopenia, as described elsewhere [8]. Since there are no evidence-based treatment options for patients with long-lasting symptoms, nor for persistent SARS-CoV-2 infection [1,2], we hypothesized that IgA and IgG-secreted antibodies present in breast milk could be useful to treat persistent SARS-CoV-2 infection in immunodeficient patients.

2. Materials and Methods

2.1. Ethics

All procedures followed the ethical standards of the responsible committee on human experimentation and were approved by the ethics committee of the University of Campinas (Campinas, Brazil; approval numbers CAAE: 53160821.0.0000.5404; CAAE: 17187819.4.0000.5404; and CAAE: 30580020.1.0000.0008). Patient and participant data were anonymized, and written informed consent was obtained.

2.2. Patient

The patient in this study was a 32-year-old female diagnosed with a single nucleotide polymorphism in the NFκB1 gene (NM_001165412: exon 8:c.C604T:p.Q202X, NFKB1:NM_003998:exon8:c. C607T:p.Q203X), which is known to affect the Rel homology domain (RHD) of the NFκB1 gene, responsible for mediating DNA-binding, nuclear translocation, and dimerization [8]. Her clinical phenotype is characterized for lymphoproliferation (splenomegaly), autoimmunity (cytopenia), absent serum IgA and low IgM and IgG levels, reduced peripheral CD3+ and CD4+ cells, and an absence of CD19+ cells. Impaired canonical NFκB signaling has been observed in NFκB1-haploinsufficient patients, suggesting that defective protein synthesis might occur. As a consequence, the immune and inflammatory responses, as well as cell survival, are impaired [8].

2.3. COVID-19 Convalescent Plasma

Convalescent plasma units were obtained from two donors by apheresis using the Amicus™ automated blood cell separator (Fresenius Kabi AG, Bad Homburg vor der Höhe, Germany). Donation criteria included confirmation of previous SARS-CoV-2 infection through positive reverse transcription real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) test results, absence of symptoms for at least 28 days, and eligibility for other clinical and laboratory blood donation criteria, in accordance with national legislation. The evaluation of SARS-CoV-2-specific neutralizing antibody titers was performed by observing the absence of cytopathic effect in cultures of Vero E6 cells incubated with a serum–virus mixture [9]. After three days of incubation, the Vero cells were inspected using an inverted optical microscope; the highest serum dilution that protected more than 80% of cells from cytopathic effect was taken as the neutralization titer. These procedures were carried out within a clinical trial approved by the Brazilian Commission on Ethics in Research (approval number CAAE: 30580020.1.0000.0008). Both donors were blood type O+, with neutralizing antibody titers of 1:640. The SARS-CoV-2 genomes of the blood donors were not sequenced, but it is likely that both of them were infected with the VOC Gamma SARS-CoV-2 lineage since this variant and its sub-lineages were the most prevalent in Brazil (corresponding to 89.81% of the deposited genomes on GSAID) during March and April 2021, a period in which both donors had COVID-19 (https://www.gisaid.org/, accessed on 26 April 2022) [10].

2.4. Human Breast Milk

Human breast milk from a fully COVID-19-vaccinated mother was obtained from a maternal milk bank in São Paulo, Brazil, after ethical approval. The criteria for the selection of the milk donor were the absence of clinical symptoms, previous SARS-CoV-2-complete vaccination for at least 15 days, and negative test results for human immunodeficiency virus (HIV) and hepatitis B and C virus (HBV and HCV). The milk administered in this study was previously pasteurized. The procedure for milk ingestion includes intaking a 30 mL dose of milk every 4 h for 14 days, totaling a 180 mL volume per day. The proband should retain the milk in their mouth for 3 min before swallowing and repeat the RT-PCR for SARS-CoV-2 after 14 days of treatment. In this study, breast milk from only one donor was used. The milk donor appointed herein received two doses of the BNT162b2 vaccine (Pfizer–BioNTech, Kalamazoo, MI, USA). The second dose was applied on 5 June 2021. The donor reported not having had COVID-19.

2.5. RNA Extraction and RT-qPCR

Viral RNA was extracted from nasopharyngeal swab samples using the Quick-DNA/RNA viral kit (Catalog number: D7021, Zymo Research, Irvine, CA, USA) according to the manufacturer's instructions. RT-PCR for SARS-CoV-2 diagnosis was performed in the Clinical Pathology Laboratory (LPC) of the University of Campinas Hospital with the GeneFinder COVID-19 Plus RealAmp Kit (Catalog number: IFMR-45, OSANG Healthcare, Anyang, South Korea) [11], following the manufacturer's instructions. For viral load quantification, RNA was tested by reverse transcription real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) targeting the envelope gene [12].

2.6. SARS-CoV-2 Genomic Sequencing and Phylogenetic and Genomic Analyses

Three RNA samples were submitted to SARS-CoV-2 genome sequencing, carried out using the ARTIC network SARS-CoV-2 V3 primer scheme (https://artic.network/ncov-2019, accessed on 26 April 2022) protocol with the MinION platform (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK) [13,14]. FAST5 files containing the raw signal data were basecalled, demultiplexed, and trimmed using Guppy software, version 4.4.1 (Oxford Nanopore Technologies, Oxford, UK). The reads were aligned against the reference genome Wuhan-Hu-1 (GenBank accession No. MN908947.3) using the minimap2 software, version 2.17.r941 (Cambridge, MA, USA) [15], and converted into a sorted BAM file using the SAMtools software (Cambridge, MA, USA) [16]. Length filtering (minimum and maximum sizes of

400 bp and 700 bp, respectively), quality testing, primer trimming, variant calling, and consensus sequencing were performed for each barcode using guppyplex and the ARTIC nanopolish pipeline (https://artic.network/ncov-2019/ncov2019-bioinformatics-sop.html, accessed on 26 April 2022). Genome regions with a depth of <20-fold were represented with N characters. Subsequently, the genomes were uploaded to the CoV-GLUE online resource (http://cov-glue.cvr.gla.ac.uk, accessed on 26 April 2022) and Pangolin web application (https://pangolin.cog-uk.io/, accessed on 26 April 2022) [17] for mutation determination and lineage classification. Finally, we used the open-source interactive tool NextClade(v0.4.0) (Seattle, WA, USA) [18] to assign the sequences to clades.

2.7. Flow Cytometry Analysis

Lymphocyte subset analysis was performed by flow cytometry, with a "stain-lyse-wash" protocol, using the following monoclonal antibody combination, on 19th May: CD4 FITC (Catalog #555346, BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA), TCRab PE (Catalog #555548, BD Biosciences), CD3 PerCP (Catalog # 347344, BD Biosciences), CD56 APC (Catalog #17-0566-42, eBioscience, San Diego, CA, USA), CD16 APC (Catalog #561248, BD Biosciences), CD8 APC-eFluor780 (Catalog #47-0088-42, Invitrogen), CD19 eFluor 450 (Catalog # 48-0198-42, Invitrogen, Waltham, MA, USA), TCRgd PE Cy7 (Catalog #655410, BD Biosciences), and CD45 eFluor506 (Catalog #69-0459-42, Invitrogen). On 12th July, the following monoclonal antibody combination was used: CD3FITC/CD8PE/CD45PERCP/CD4APC (Catalog #340499, BD Biosciences), CD3FITC/CD16+CD56PE/CD45PERCP/CD19APC (Catalog #340500, BD Biosciences), CD4FITC (Catalog #555346, BD Biosciences), CD45ROPE (Catalog #555493, BD Biosciences), CD45RAAPC (Catalog #550855, BD Biosciences), and FACS Lysing Solution (Catalog #349202, BD Biosciences). A total of 100,000 cells were acquired in a FACSCanto II flow cytometer (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA). The analysis was conducted using the FACsDiva software (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA). The percentage of lymphocyte subsets was calculated in the gate CD45high/SSClow. B lymphocytes were CD19+, T lymphocytes were CD3+, and NK were CD3-/CD56+ cells.

3. Case Report

On 11 March 2021, the patient reported the onset of COVID-19 symptoms, including fever (38–38.5 °C), headache, asthenia, anorexia, diarrhea, sore throat, and cough, which lasted approximately two weeks. On 15 March 2021, SARS-CoV-2 RNA was detected in a nasopharyngeal sample by RT-qPCR. One month later, the patient remained symptomatic, and nasopharyngeal swab samples presented a viral load of 1.99×10^7 RNA copies per mL. Then, based on a near-complete sequence with 87.4% genome coverage (20× depth coverage), the SARS-CoV-2 was classified as the Gamma variant (P.1 PANGO lineage) (Supplementary Material Figure S1). Although the patient remained febrile for 75 days (varying from 37.8 °C to 38.5 °C according to daily measurement before bed with an axillary thermometer), with slight weight loss (~12.5% in 120 days), chest tomography, electrocardiogram, and oxygen saturation were normal. Other symptoms, such as headache, anorexia, and cough, were also recurrently present during these 75 days in the patient. The diagnosis of prolonged infection was based on the detection of SARS-CoV-2 RNA on 15 May (3.06×10^7 RNA copies/mL) and 7 June (1.35×10^8 RNA copies/mL), nearly 3 months after the initial diagnosis, by RT-PCR and confirmed by genome whole-sequencing (Figure 1). We performed a maximum-likelihood phylogenetic analysis using NextStrain (Auspice tool) [8] and confirmed all Gamma lineage signatures (Supplementary Material Table S1) using the CoV-GLUE online resource. We did not find nucleotide substitutions in the three SARS-CoV-2 genomes in the patient, thus excluding potential re-infection.

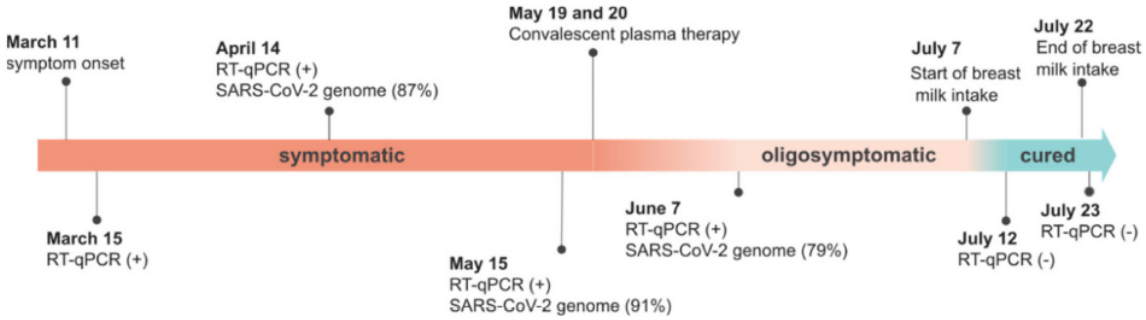


Figure 1. Timeline of COVID-19 in the NFκB-deficient patient. (+), positive; (−), negative. (%) represents the percentage coverage of the sequenced SARS-CoV-2 genome.

The clinical and laboratory parameters of the patient did not meet the criteria for hospitalization; therefore, she remained self-isolated at home, under medical supervision. Our patient's clinical course of SARS-CoV-2 infection can be defined as dysregulated but without hyperinflammation (124 days).

On 19 May 2021, the patient was infused with a total of 600 mL of plasma from two COVID-19 convalescent patients by the intravenous route (IgG titers: 1:640) for two consecutive days. Three days after COVID-19 convalescent plasma infusion, she reported feeling more active and stronger, without persistent fever. However, SARS-CoV-2 RNA was still detectable by RT-qPCR in oropharyngeal swab samples collected on 7 June 2021, after the COVID-19 convalescent plasma infusion (Figure 1). Therefore, the patient remained infected and was at risk of infecting other people and even progressing to more severe COVID-19 since she still felt weak and had not yet recovered her appetite.

Since IgA dimers are more potent in neutralizing SARS-CoV-2 in vitro than IgG [5], a treatment providing IgA specific for SARS-CoV-2 for the patient was suggested, via ingestion of human mature breast milk from COVID-19-vaccinated women at ~0.1 g/dL. On 7 July 2021, the patient started treatment with the intake of pasteurized breast milk from a BNT162b2-vaccinated (Pfizer–BioNTech) mother every 4 h (180 mL per day) for two weeks. The procedure included retaining the milk in her mouth for at least 3 min, followed by swallowing.

It was noticed that one week after convalescent plasma infusion, the absolute numbers of neutrophils (4170/mm^3), lymphocytes (1320/mm^3), and monocytes (1170/mm^3) practically doubled (7880, 2400, and 2400, respectively/mm^3), indicating the recovery of the hematopoietic system. However, one week later, the number of lymphocytes was reduced to half (1320/mm^3), returning to a value near the upper limit of normality (3730/mm^3) after ingesting the vaccinated mother's milk (Table 1). This fluctuation observed in the number of neutrophils, lymphocytes, and monocytes probably corresponded to the clinical status of symptomatic infection followed by the impact of the therapeutic interventions.

In addition, before COVID-19 convalescent plasma infusion, the absolute number of CD3+ and CD4+ cells was reduced by >50% compared to the usual values for this patient, but after plasma infusion and breast milk ingestion treatment, the amounts of CD3+ and CD4+ were normalized. However, the CD4+/CD8+ ratio and the absolute number of CD19+ remained unchanged during the clinical course. After both interventions, the marked reduction in the elevated serum ferritin and C-reactive protein levels were indicative of strong neutralizing activity, no doubt suggesting a protective effect against infection in this immunodeficient patient (Table S3).

Table 1. Patient's hemogram test results.

Parameters	19 May 2021	27 May 2021	7 June 2021	22 July 2021	Reference Values
WBC ($\times 10^3/\mu L$)	6.78	13.09	10.96	9.57	4–10
RBC ($\times 10^6/\mu L$)	4.14	4.09	4.55	5.40	4.2–5.4
Hb (g/dl)	12.10	12.40	13.80	15.30	12–16
Ht (%)	37.10	37.90	42.90	46.20	37–47
MCH (fl)	89.60	92.70	94.30	85.50	80–99
MCHC (pg)	29.20	30.30	30.30	28.30	27–32
CHCM (g/dl)	32.60	32.70	32.20	34.20	32–37
RDW (%)	13.50	15.40	16.80	15.20	10–15
PLT ($\times 10^3/\mu L$)	260	292	206	299	150–400
MPV (fl)	12.20	12.40	12.20	10.80	6–10
Neutrophil/mm^3	4170	7880	9070	5010	2000–8000
Lymphocyte/mm^3	1320	2400	1320	3730	1000–4000
Monocyte/mm^3	1170	2400	550	680	200–800
Eosinophil/mm^3	20	130	0	80	0–450
Basophil/mm^3	20	0	0	7	0–200

Legend: WBC, white blood cells. RBC, red blood cells. Hb, hemoglobin. Ht, hematocrit. MCH, mean corpuscular hemoglobin. MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration. RDW, red blood cell distribution width. PLT, platelet count. MVP, mean platelet volume.

On 12 July 2021, the patient was fully recovered, and oropharyngeal swab samples tested negative by RT-qPCR 16 days after the end of treatment. In addition, the patient was still negative by RT-qPCR and IgM non-reagent for SARS-CoV-2 on 24 November 2021. Thus, albeit rare, this case supports the potential therapeutic use of specific secretory antibodies (IgA and IgG) from human breast milk to treat COVID-19 in CVID patients. We suspect that the IgA antibodies present in the breast milk of vaccinated women can neutralize SARS-CoV-2 maintained in the tonsils and oropharyngeal and gastrointestinal tracts, which may be important sites of viral persistence in immunosuppressed individuals [19–22]. This case report provides evidence that suggests the milk may have neutralized the virus and/or led to the subsequent clearance of infection and highlights the importance of further studies in this field to help immunodeficient patients with long COVID.

4. Discussion

Impairments in innate or adaptive immune response are key points in SARS-CoV-2 persistent infection. In fact, results obtained in a short series of case reports of COVID-19 in immunocompromised patients suggest that SARS-CoV-2 infections may be maintained in these individuals even with high titers of NAb post-vaccination [22]. Thus, immunocompromised patients are at risk of developing persistent infection [23]. In addition, there is no evidence-based treatment available for SARS-CoV-2 persistent infection or long COVID-19 [1,2]. This study reports a case of persistent infection in a patient with the CVID phenotype, with a polymorphism in the NFκB1 gene, which affects B cell development and the production of IgA and IgG.

IgA antibodies play an important role against respiratory viral infections and are early secreted in the course of SARS-CoV-2 infection, followed by IgM and IgG antibodies [4–6]. High levels of specific anti-RBD IgA are detected in the serum, saliva, and bronchoalveolar lavage (BAL) of COVID-19 patients, suggesting an important role against infection of the mucosa [6]. Breast milk from vaccinated mothers also shows a rapid increase in specific anti-SARS-CoV-2 IgA antibodies, followed by IgG, 2 weeks after the first vaccine dose, which increases at 4 weeks and after the second dose of the Pfizer-BioNTech vaccine [24]. The patient in this study was diagnosed with persistent infection, with high viral load, caused by the Gamma variant (PANGO Lineage P.1). She received convalescent plasma intravenously, which helped in symptom relief. However, the infection and symptoms were completely resolved only after treatment with the vaccinated mother's breast milk via the oral route. Thus, we believe that the IgG and, especially, IgA antibodies present in

the milk act by inactivating viruses present in the mucosa of the gastrointestinal tract. In addition, although breast milk antibodies cannot pass into serum in humans [25], they can confer systemic protection against different pathogens, as observed for HIV and respiratory viruses [26]. Today, we know that breast milk antibodies are essential for selecting the gut microbiome, which is critical for immune defense and immune education [25]. For example, short-chain fatty acids produced by commensal bacteria in the gut, which can be potentially modulated by breast milk antibodies, are important for the regulation of type I interferon, which acts in the control of Respiratory Syncytial Virus (RSV) infection [27].

It is important to highlight that hyperinflammation was not observed in the course of infection in our patient, which lasted 124 days. It is well known that host factors associated with innate immune response against cellular infection, such as the imbalanced production of inflammatory cytokines, can lead to acute respiratory distress syndrome in COVID-19 patients and that inflammatory imbalance is associated with systemic symptoms [28]. In addition, it was noted that SARS-CoV-2 infected cells showed a prevalent NFκB transcriptional signature, high expression of proinflammatory cytokines, and a viral replication dependency of NFκB transcription factor p65 or p50, suggesting that the inflammatory profile observed in infected cells depends on host factors of the NFκB gene family. Thus, the absence of severe symptoms could be associated with the polymorphism observed in the patient of this case report [Q202X (c.604 C > T)] [8].

Recent studies have shown that SARS-CoV-2 messenger RNA (mRNA) vaccines, such as BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) and mRNA-1273 (Moderna), are able to elicit high levels of neutralizing antibodies [29], usually higher than those observed after other vaccines [30]. Moreover, the levels of anti-spike antibodies are maintained at high titers for several months after mRNA vaccination, mainly in previously infected individuals who received at least two doses of mRNA vaccine, or three independent exposures to the spike antigen [31], in an event associated with the formation of a persistent germinal center B cell response [32]. Similarly, the anti-SARS-CoV-2 IgA and IgG antibody titers in the milk of vaccinated mothers did not decrease after 60 days of complete vaccination with mRNA vaccines [33].

There is a degree of cross-reactive natural immunity induced by infection with different SARS-CoV-2 variants or vaccination that is increased in infected individuals with a history of full vaccination [34]. However, new VOC variants, such as B.1.1.529 (omicron), BA.1, and BA.2, have demonstrated the ability to escape from neutralizing antibodies induced after natural infection or vaccination. The neutralizing titers detected in the serum of vaccinated individuals who received two doses of the BNT162b2 vaccine are usually lower for the omicron variant than for original SARS-CoV-2 lineages. Interestingly, this difference was six times lower in individuals who received three doses of the vaccine or who had a history of complete vaccination and infection [35]. Thus, further studies investigating the efficacy of milk ingestion from donors who have different histories of vaccination or infection are warranted.

Finally, persistently infected immunosuppressed patients have been linked to virus evolution and the possible emergence of new variants [36–38]. In this case report, we sequenced three samples collected during infection persistence and did not observe any new mutations or single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the Gamma variant genome detected in this patient.

Limitations of this study include the rarity of the reported immunodeficiency, which limits generalizations to other types of immunosuppression or hypogammaglobulinemia; the absence of testing for neutralizing antibody titers and the number of different classes of antibodies against specific regions of the virus in the breast milk of the donor; and the fact that the patient was not tested for SARS-CoV-2 by RT-qPCR immediately before breast milk ingestion. Therefore, it is possible that other factors aside from breast milk ingestion may have contributed to virus clearance in the persistently infected woman.

5. Conclusions

Breast milk from COVID-19-vaccinated mothers or specific anti-SARS-CoV-2 IgA antibodies could be beneficial in the treatment of persistent infection in immunocompromised patients.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at https://www.mdpi.com/article/10.3390/v14051042/s1: Figure S1: Maximum-likelihood phylogenetic analysis using NextStrain (Auspice tool); Table S1: Mutation signatures of VOC Gamma (PANGO P.1 lineage or NextStrain clade 20J) from genome sequencing of SARS-CoV-2; Table S2: Immunophenotyping of our patient; Table S3: C-reactive protein and ferritin values.

Author Contributions: M.M.d.S.V., J.L.P.-M. and F.G. conceptualized the study. J.S.S., M.R.A., L.F.M., L.S.M., D.A.T.-T. and J.F. contributed to the acquisition of data. J.S.S., M.R.A., W.M.d.S., L.F.M., L.S.M., M.A.-C., B.D.B. and F.G. contributed to data analysis. J.S.S., M.R.A., W.M.d.S., L.F.M., L.S.M., E.C.S., B.D.B., N.R.F., R.S.B.S., D.M.V., F.G., J.L.P.-M., R.G.S., M.L.C., F.R.S. and M.M.d.S.V. contributed to data interpretation. W.M.d.S. and M.R.A. drafted the manuscript. M.M.d.S.V., S.C.W., J.L.P.-M. and F.G. revised the manuscript. Funding: J.L.P.-M., M.M.d.S.V., W.M.d.S., F.R.S., E.C.S., N.R.F., M.A.-C., R.G.S. and B.D.B. acquired funding for the study. All authors read and approved the final version of the manuscript and had access to all the data in the study.

Funding: This study was supported by grants from the São Paulo Research Foundation (FAPESP, grant Nos. 2016/00194-8, 2020/04558-0, and 2018/14372-0), the *Fundo de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Extensão* of UNICAMP (FAEPEX-UNICAMP, grant No. 2266/20), MCTI, through the *Rede Corona-ômica* Brazil/MCTI (funded by the Financier of Studies and Projects [FINEP] grant No. 01.20.0003.00), *Rede Vírus*/MCTI (FINEP grant No. 01.20.0029.000462/20), the Brazilian National Council for Scientific and Technological Development (CNPq) (grant Nos. 404096/2020-4, 401977/2020 and 382206/2020-7), and by the Medical Research Council and FAPESP-Brazil-UK Center for (Arbo) virus Discovery, Diagnosis, Genomics, and Epidemiology partnership award (MR/S0195/1 and FAPESP 2018/14389-0). J.L.P.-M. is supported by CNPq grant No. 305628/2020-8. W.M.d.S. is supported by the Global Virus Network fellowship. S.C.W. is supported by NIH grant AI120942. M.R.A. and J.F. are recipients of scholarships provided by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES) Nos. 88887.356527/2019-00 and 88887.513498/2020-00, respectively. D.A.T.-T. and L.S.F. are supported by CNPq grant Nos. 141844/2019-1 and 382630/2021-1, respectively.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and approved by the Ethics Committee of the University of Campinas (Campinas, Brazil; approval numbers CAAE: 53160821.0.0000.5404, date of approval 17 December 2021; CAAE: 17187819.4.0000.5404, date of approval 22 October 2019; and CAAE: 30580020.1.0000.0008 date of approval 12 May 2020).

Informed Consent Statement: Written informed consent was obtained from the patient and the breast milk donor in order to publish this paper.

Data Availability Statement: The SARS-CoV-2 sequences obtained in this case report have been uploaded to the GISAID Initiative (www.gisaid.org, accessed on 26 April 2022) under the accession numbers EPI_ISL_6513196 (14 April 2021), EPI_ISL_6513480 (15 May 2021), and EPI_ISL_6513725 (7 June 2021).

Acknowledgments: The authors acknowledge the important voluntary contributions of the patient included in this study. In addition, we thank the UNICAMP Task Force against COVID-19 for facilitating this study, the Brazilian Ministry of Science, Technology, and Innovation (MCTI), and all members of the *Corona-ômica* network.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no relevant conflict of interest.

References

1. Brown, K.; Yahyouche, A.; Haroon, S.; Camaradou, J.; Turner, G. Long COVID and self-management. *Lancet* **2022**, *399*, 355. [CrossRef]
2. Yang, B.; Fan, J.; Huang, J.; Guo, E.; Fu, Y.; Liu, S.; Xiao, R.; Liu, C.; Lu, F.; Qin, T.; et al. Clinical and molecular characteristics of COVID-19 patients with persistent SARS-CoV-2 infection. *Nat. Commun.* **2021**, *12*, 3501. [CrossRef] [PubMed]

3. See, R.H.; Zakhartchouk, A.N.; Petrick, M.; Lawrence, D.J.; Mok, C.P.Y.; Hogan, R.J.; Rowe, T.; Zitzow, L.A.; Karunakaran, K.P.; Hitt, M.M.; et al. Comparative evaluation of two severe acute respiratory syndrome (SARS) vaccine candidatesin mice challenged with SARS coronavirus. *J. Gen. Virol.* **2006**, *87*, 641–650. [CrossRef] [PubMed]
4. Asahi-Ozaki, Y.; Yoshikawa, T.; Iwakura, Y.; Suzuki, Y.; Tamura, S.; Kurata, T.; Sata, T. Secretory IgA Antibodies Provide Cross-ProtectionAgainst Infection with Different Strainsof Influenza B Virus. *J. Med. Virol.* **2004**, *74*, 328–335. [CrossRef]
5. Sun, L.; Kallolimath, S.; Palt, R.; Stiasny, K.; Mayrhofer, P.; Maresch, D.; Eidenberger, L.; Steinkellner, H. Increased in vitro neutralizing activity of SARS-CoV-2 IgA1 dimers compared to monomers and IgG. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **2021**, *118*, e2107148118. [CrossRef]
6. Sterlin, D.; Mathian, A.; Miyara, M.; Mohr, A.; Anna, F.; Claër, L.; Quentric, P.; Fadlallah, J.; Devilliers, H.; Ghillani, P.; et al. IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. *Sci. Transl. Med.* **2021**, *13*, eabd2223. [CrossRef]
7. Pace, R.; Williams, J.E.; Järvinen, K.M.; Belfort, M.B.; Pace, C.D.W.; Lackey, K.A.; Gogel, A.C.; Nguyen-Contant, P.; Kanagaiah, P.; Fitzgerald, T.; et al. Characterization of SARS-CoV-2 RNA, Antibodies, and Neutralizing Capacity in Milk Produced by Women with COVID-19. *mBio* **2021**, *12*, e03192-20. [CrossRef]
8. Lorenzini, T.; Fliegauf, M.; Klammer, N.; Frede, N.; Proietti, M.; Bulashevska, A.; Camacho-Ordonez, N.; Varjosalo, M.; Kinnunen, M.; de Vries, E.; et al. Characterization of the clinical and immunologic phenotype and management of 157 individuals with 56 distinct heterozygous NFKB1 mutations. *J. Allergy Clin. Immunol.* **2020**, *146*, 901–911. [CrossRef]
9. Souza, W.M.; Amorim, M.R.; Sesti-Costa, R.; Coimbra, L.D.; Brunetti, N.S.; Toledo-Teixeira, D.A.; de Souza, G.F.; Muraro, S.P.; Parise, P.L.; Barbosa, P.P.; et al. Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: An immunological study. *Lancet Microbe* **2021**, *2*, E527–E535.
10. Khare, S.; Gurry, C.; Freitas, L.; Schultz, M.B.; Bach, G.; Diallo, A.; Akite, N.; Ho, J.; Lee, R.T.C.; Yeo, W.; et al. GISAID's Role in Pandemic Response. *China CDC Wkly.* **2021**, *3*, 1049–1051. [CrossRef]
11. Ong, D.S.Y.; Claas, E.C.J.; Breijer, S.; Vaessen, N. Comparison of the GeneFinder TM COVID-19 Plus RealAmp Kit on the sample-to-result Platform ELITeInGenius to the national reference method: An added value of N gene target detection? *J. Clin. Virol.* **2020**, *132*, 104632. [CrossRef] [PubMed]
12. Corman, V.M.; Landt, O.; Kaiser, M.; Molenkamp, R.; Meijer, A.; Chu, D.K.; Bleicker, T.; Brünink, S.; Schneider, J.; Schmidt, M.L.; et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* **2020**, *25*, 2000045. [CrossRef] [PubMed]
13. Faria, N.R.; Mellan, T.A.; Whittaker, C.; Claro, I.M.; Candido, D.D.S.; Mishra, S.; Crispim, M.A.E.; Sales, F.C.; Hawryluk, C.; McCrone, J.T.; et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science* **2021**, *372*, 815–821. [CrossRef] [PubMed]
14. Candido, D.S.; Claro, I.M.; de Jesus, J.G.; Souza, W.M.; Moreira, F.R.R.; Dellicour, S.; Mellan, T.A.; du Plessis, L.; Pereira, R.H.M.; Sales, F.C.S.; et al. Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. *Science* **2020**, *369*, 1255–1260. [CrossRef] [PubMed]
15. Sahlin, K.; Mäkinen, V. Accurate spliced alignment of long RNA sequencing reads. *Bioinformatics* **2021**, *37*, 4643–4651. [CrossRef] [PubMed]
16. Li, H.; Handsaker, B.; Wysoker, A.; Fennell, T.; Ruan, J.; Homer, N.; Marth, G.; Abecasis, G.; Durbin, R. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* **2009**, *25*, 2078–2079. [CrossRef] [PubMed]
17. O'Toole, A.; Scher, E.; Underwood, A.; Jackson, B.; Hill, V.; McCrone, J.T.; Colquhoun, R.; Ruis, C.; Abu-Dahab, K.; Taylor, B.; et al. Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evol.* **2021**, *7*, veab064. [CrossRef]
18. Hadfield, J.; Megill, C.; Bell, S.M.; Huddleston, J.; Potter, B.; Callender, C.; Sagulenko, P.; Bedford, T.; Neher, R.A. Nextstrain: Real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* **2018**, *34*, 4121–4123. [CrossRef]
19. Kadriyan, H.; Dirja, B.T.; Suryani, D.; Yudhanto, D. COVID-19 infection in the palatine tonsil tissue and detritus: The detection of the virus compartment withRT-PCR. *BMJ Case Rep* **2021**, *14*, e239108. [CrossRef]
20. Lehmann, M.; Allers, K.; Heldt, C.; Meinhardt, J.; Schmidt, F.; Rodriguez-Sillke, Y. Human small intestinal infection by SARS-CoV-2 is characterized by a mucosal infiltration with activated $CD8^+$T cells. *Mucosal Immunol.* **2021**, *14*, 1381–1392. [CrossRef]
21. Lee, S.; Yoon, G.Y.; Myoung, J.; Kim, S.; Ahn, D. Robust and persistent SARS-CoV-2 infection in the human intestinal brush border expressing cells. *Emerg. Microbes Infect.* **2020**, *9*, 2169–2179. [CrossRef] [PubMed]
22. Mishra, M.; Zahra, A.; Chauhan, L.V.; Thakkar, R.; Ng, J.; Joshi, S.; Spitzer, E.D.; Marcos, L.A.; Lipkin, W.I.; Mishra, N. A Short Series of Case Reports of COVID-19 in Immunocompromised Patients. *Viruses* **2022**, *14*, 934. [CrossRef]
23. Yang, Y.; Iwasaki, A. Impact of Chronic HIV Infection on SARS-CoV-2 Infection, COVID-19 Disease and Vaccines. *Curr. HIV/AIDS Rep.* **2022**, *19*, 5–16. [CrossRef] [PubMed]
24. Perl, S.H.; Uzan-Yulzari, A.; Klainer, H.; Asiskovich, L.; Youngster, M.; Rinott, E.; Youngster, I. SARS-CoV-2-Specific Antibodies in Breast Milk After COVID-19 Vaccination of Breastfeeding Women. *JAMA* **2021**, *325*, 2013–2014. [CrossRef]
25. Atyeo, C.; Alter, G. The multifaceted roles of breast milk antibodies. *Cell* **2021**, *184*, 1486–1499. [CrossRef]
26. Henkle, E.; Steinhoff, M.C.; Omer, S.B.; Roy, E.; Arifeen, S.E.; Raqib, R. The Effect of Exclusive Breast-feeding on Respiratory Illness in Young Infants in a Maternal Immunization Trial in Bangladesh. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **2013**, *32*, 431–435. [CrossRef]
27. Antunes, K.H.; Fachi, J.L.; de Paula, R.; da Silva, E.F.; Pral, L.P.; dos Santos, A.A.; Dias, G.B.M.; Vargas, J.E.; Puga, R.; Mayer, E.Q.; et al. Microbiota-derived acetate protects against respiratory syncytial virus infection through a GPR43-type 1 interferon response. *Nat. Commun.* **2019**, *10*, 3273. [CrossRef]
28. Ramos-Casals, M.; Brito-Zerón, P.; Mariette, X. Systemic and organ-specific immune-related manifestations of COVID-19. *Nat. Rev. Rheumatol.* **2021**, *17*, 315–332. [CrossRef]
29. Steensels, D.; Pierlet, N.; Penders, J.; Mesotten, D.; Heylen, L. Comparison of SARS-CoV-2 Antibody Response Following Vaccination with BNT162b2 and mRNA-1273. *JAMA* **2021**, *326*, 1533–1535. [CrossRef]

30. Barin, B.; Kasap, U.; Selçuk, F.; Volkan, E.; Uluçkan, Ö. Comparison of SARS-CoV-2 anti-spike receptor binding domain IgG antibody responses after CoronaVac, BNT162b2, ChAdOx1 COVID-19 vaccines, and a single booster dose: A prospective, longitudinal population-based study. *Lancet Microbe* **2022**, *4*, e274–e283. [CrossRef]
31. Zhong, D.; Xiao, S.; Debes, A.K.; Egbert, E.R.; Caturegli, P.; Colantuoni, E.; Milstone, A.M. Durability of Antibody Levels After Vaccination With mRNA SARS-CoV-2 Vaccine in Individuals with or Without Prior Infection. *JAMA* **2021**, *326*, 2524–2526. [CrossRef] [PubMed]
32. Turner, J.S.; O'Halloran, J.A.; Kalaidina, E.; Kim, W.; Schmitz, A.J.; Zhou, J.Q. SARS-CoV-2 mRNA vaccines induce persistent human germinal centre responses. *Nature* **2021**, *596*, 109–113. [CrossRef] [PubMed]
33. Trofin, F.; Nastase, E.V.; Iancu, L.S.; Constantinescu, D.; Cianga, C.M.; Lunca, C. Anti-RBD IgA and IgG Response and Transmission in Breast Milk of Anti-SARS-CoV-2 Vaccinated Mothers. *Pathogens* **2022**, *11*, 286. [CrossRef] [PubMed]
34. Walls, A.C.; Sprouse, K.R.; Bowen, J.E.; Joshi, A.; Franko, N.; Navarro, M.J.; Stewart, C.; Cameroni, E.; McCallum, M.; Goecker, E.A.; et al. SARS-CoV-2 breakthrough infections elicit potent, broad, and durable neutralizing antibody responses. *Cell* **2022**, *185*, 872–880. [CrossRef] [PubMed]
35. Yu, J.; Collier, A.Y.; Rowe, M.; Mardas, F.; Ventura, J.D.; Wan, H. Neutralization of the SARS-CoV-2 Omicron BA.1 and BA.2 Variants. *N. Engl. J. Med.* **2022**, *386*, 1579–1580. [CrossRef]
36. Choi, B.; Choudhary, M.C.; Regan, J.; Sparks, J.A.; Padera, R.F.; Qiu, X.; Solomon, I.H.; Kuo, H.-H.; Boucau, J.; Bowman, K.; et al. Persistence and Evolution of SARS-CoV-2 in an Immunocompromised Host. *N. Engl. J. Med.* **2020**, *383*, 2291–2293. [CrossRef]
37. Corey, L.; Beyrer, C.; Cohen, M.S.; Michael, N.L.; Bedford, T.; Rolland, M. SARS-CoV-2 Variants in Patients with Immunosuppression. *N. Engl. J. Med.* **2021**, *385*, 562–566. [CrossRef]
38. Kemp, S.A.; Collier, D.A.; Datir, R.P.; Ferreira, I.A.T.M.; Gayed, S.; Jahun, A.; Hosmillo, M.; Rees-Spear, C.; Mlcochova, P.; Lumb, I.U.; et al. SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. *Nature* **2021**, *592*, 277–282. [CrossRef]

Material Suplementar - Artigo 5

viruses

MDPI

Supplementary Materials

Clearance of Persistent SARS-CoV-2 RNA Detection in a NFκB-Deficient Patient in Association with the Ingestion of Human Breast Milk: A Case Report

Janine S. Sabino [1,†], Mariene R. Amorim [2,†], William M. de Souza [3,†], Lia F. Marega [1], Luciana S. Mofatto [2], Daniel A. Toledo-Teixeira [2], Julia Forato [2], Rodrigo G. Stabeli [4,5], Maria Laura Costa [6], Fernando R. Spilki [7], Ester C. Sabino [8,9], Nuno R. Faria [9,10,11], Bruno D. Benites [12], Marcelo Addas-Carvalho [12], Raquel S. B. Stucchi [13], Dewton M. Vasconcelos [14], Scott C. Weaver [3,15], Fabiana Granja [2,16,†], José Luiz Proenca-Modena [2,17,18,*,†] and Maria Marluce dos S. Vilela [1,*,†]

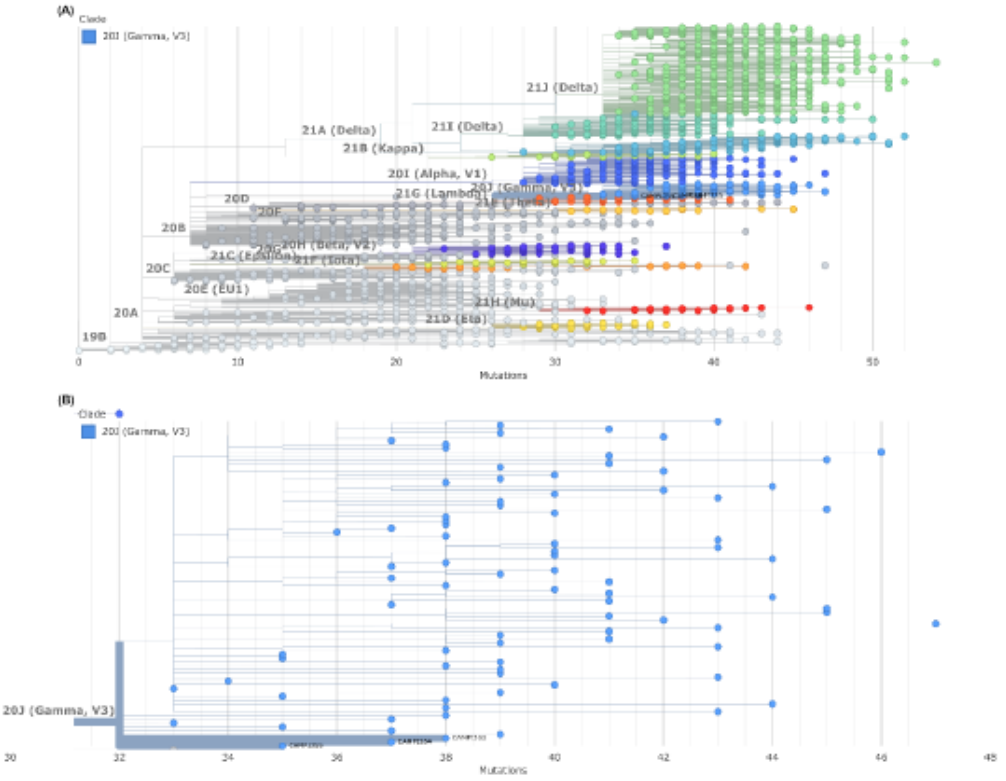


Figure S1. Maximum-likelihood phylogenetic analysis using NextStrain (Auspice tool(17). (**A**) Phylogenetic tree including clades related with 20J (Gamma V3). (**B**) The phylogenetic analysis shows the three SARS-CoV-2 genomes sequences from the proband (i.e., CAMPI353, CAMPI354 and CAMPI355) in the clade 20J (Gamma, V3).

Table S1. Mutation signatures of Gamma (PANGO P.1 lineage or NextStrain clade 20J) from genome sequencing of SARS-CoV-2.

Amino Acid	Protein	Position	CAMPI353 *	CAMPI354 *	CAMPI355 *
aa	*ORF1A*	*S1188L*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*ORF1A*	*K1795Q*	confirmed	confirmed	confirmed
deletion	*ORF1A*	*del3675/3677*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*ORF1B*	*P314L*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*ORF1B*	*E1264D*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*L18F*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*T20N*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*P26S*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*D138Y*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*R190S*	confirmed	confirmed	undetermined
aa	*S*	*K417T*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*E484K*	undetermined	undetermined	undetermined
aa	*S*	*N501Y*	undetermined	undetermined	undetermined
aa	*S*	*D614G*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*H655Y*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*S*	*T1027I*	confirmed	confirmed	undetermined
aa	*S*	*V1176F*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*ORF3A*	*G174C*	undetermined	undetermined	undetermined
aa	*ORF3A*	*S253P*	undetermined	confirmed	undetermined
aa	*ORF8*	*S84L*	absence	absence	absence
aa	*ORF8*	*E92K*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*N*	*P80R*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*N*	*R203K*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	*N*	*G204R*	confirmed	confirmed	confirmed
aa	NSP3	S370L	confirmed	confirmed	confirmed
aa	NSP3	K977Q	confirmed	confirmed	confirmed
aa	NSP3	S1735F	undetermined	undetermined	undetermined
aa	NSP6	L260F	undetermined	undetermined	undetermined
deletion	NSP6	del106/108	confirmed	confirmed	confirmed
aa	NSP12	P323L	confirmed	confirmed	confirmed
aa	NSP13	E341D	confirmed	confirmed	confirmed

* sequences are available on GISAID (accession number: EPI_ISL_6513196, EPI_ISL_6513480, and EPI_ISL_6513725; https://www.gisaid.org). The coding regions are those annotated on Wuhan-Hu-1 (GenBank accession number: NC_045512).

Table S2. Immunophenotyping of our patient.

Cell Types	19 May 2021	12 July 2021	Ref. Values
CD3/mm³ (%)	849 (88.4)	2673 (91.55)	849.1–1963.3
CD4/mm³ (%)	234 (27.6)	612 (20.95)	477.5–1140.8
CD8/mm³ (%)	466 (54.95)	1909 (65.38)	211.7–724.6
CD4/CD8	0.50	0.32	1.2–4.5
CD19/mm³ (%)	7 (0.7)	0.0	124.2–415.9
CD16⁺CD56/mm³	107 (11,1)	158 (5.41)	137–567.8
CD3/CD16⁺CD56/mm³	65 (7.6)	N/P	137–567.8
TCRab⁺CD3⁺	760 (89.5)	N/P	-
TCRab⁺CD3⁺CD4⁻CD8⁻/mm³	22 (2.9)	N/P	<1.5%
CD4⁺CD45RA⁺	N/P	112 (3.83)	137.8–574.5
CD4⁺CD45RO⁺	N/P	394 (13.50)	-
CD45⁺RA⁺	N/P	1282 (43.90)	-
CD45⁺RO⁺	N/P	1413 (48.40)	-

Legend: N/P, not performed.

Table S3. C-reactive protein and ferritin values.

Parameters	19 May 2021	27 May 2021	7 June 2021	22 July 2021	Ref. Values
C-reactive protein (mg/dL)	41.2	1.7	2.0	2.0	<0.5
Ferritin (mg/L)	1464.0	918.7	728.4		30.0–400.0

5 DISCUSSÃO

O vírus SARS-CoV-2, que emergiu na China em dezembro de 2019, se espalhou rapidamente por todos os continentes do mundo, tornando-se o evento pandêmico de maior relevância em tempos modernos. O Brasil chegou a ser um dos 3 países mais afetados em 2021 (Organização Mundial da Saúde, 2021a), sendo um possível resultado da deficiência na execução de medidas de prevenção e controle, bem coordenadas e equitativas, em meio às disparidades locais e regionais, como diferenças socioeconômicas e disponibilidade de testes e leitos hospitalares, impactando na propagação da enfermidade (Castro *et al.*, 2021). Os primeiros casos de SARS-CoV-2 oficialmente reportados em Campinas, ocorreram em março de 2020, a partir SE 14, e a cidade também presenciou o pior momento da pandemia em 2021, com a entrada e circulação da variante Gamma. A presente tese de doutorado desdobrou-se em quatro diferentes capítulos, que exploraram aspectos cruciais da pandemia da COVID-19, os quais se entrelaçam a fim de oferecer uma visão abrangente dos impactos dessa doença na população nos 2 primeiros anos da pandemia. O acompanhamento epidemiológico na cidade de Campinas, juntamente com as investigações genômicas apresentadas nessa tese, foram importantes na identificação de surtos e tomada de decisões frente a emergência de novas variantes e na compreensão do impacto da emergência destas sobre medidas de prevenção e controle.

Uma das primeiras questões quando esse novo vírus foi identificado foi “Esse vírus pode ser contido?”. A pandemia pelo SARS-CoV-2 foi declarada, mas cada país ou região tentou diferentes maneiras de conter a disseminação e minimizar seus impactos. No primeiro capítulo da tese, foram abordados aspectos epidemiológicos da COVID-19 e como as medidas preventivas adotadas pelos governantes repercutiram na evolução da doença em Campinas. Os dados epidemiológicos foram associados com as diferentes fases do plano São Paulo, onde houve uma flutuação na flexibilização das atividades permitidas e adesão às NPIs. Após o início das NPIs em março, e antes da implementação do plano São Paulo, observamos alta estringência a nível estadual (80) com redução de mais de 50% na movimentação de pessoas, e uma queda na dispersão da doença em abril de 2020 (Rt < 1). Todavia, foi observado em Campinas, assim como em outros locais no Brasil, que o nível de isolamento social diminuiu em maio do mesmo ano,

quando passou a ser obrigatório o uso de máscaras de proteção em ambientes fechados e flexibilização de medidas restritivas, sugerindo que as pessoas passaram a sair de casa contando com a proteção provida pelas máscaras (Fracalossi de Moraes *et al.*, 2022).

Estudos têm mostrado que as medidas de prevenção como as NPIs foram tão importantes quanto as vacinas no combate ao vírus. No Brasil, foi observado que a maneira como as medidas foram implementadas assim como o tempo de duração, a adesão da população, a rigorosidade das medidas preventivas, disponibilidade de testes, e até mesmo crises políticas, afetaram sua efetividade resultando em uma rápida dispersão do vírus (Jorge *et al.*, 2021; Castro *et al.*, 2021). Foi visto, por exemplo, que adesão às máscaras de proteção facial tiveram importante contribuição na prevenção da doença mesmo após o advento das novas variantes (Brooks e Butler, 2021; Gurbaxani *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2022; Worby e Chang, 2020). Vale ressaltar que há uma estimativa de 50% das transmissões de COVID-19 por pessoas assintomáticas, sendo importante o uso de máscaras por todos (Gurbaxani *et al.*, 2022; Johansson *et al.*, 2021).

Os municípios brasileiros começaram a adotar medidas de prevenção contra a COVID-19 a partir de março de 2020, de maneira heterogênea com diferentes níveis de restrição, variando por estado ou entre os municípios (De Souza Santos, de *et al.*, 2021). No estudo de De Souza Santos *et al.* (2020), foram coletados dados sobre NPIs de 4.027 municípios brasileiros, e pode-se observar que apesar da implementação de medidas de distanciamento social e cordão sanitário em alguns locais, a doença que, a princípio, estava restrita aos grandes centros urbanos como as capitais São Paulo, Rio de Janeiro, Manaus e Belo Horizonte, se espalhou rapidamente pelo país, alcançando mais de 75% dos municípios (n = 4.196) em maio de 2020 (De Souza Santos, de *et al.*, 2021). Em outras palavras, as medidas adotadas no Brasil no início da pandemia, não foram suficientes para conter o espalhamento do vírus por todo o país (De Souza *et al.*, 2020).

A cidade de Campinas, seguiu as normas do plano São Paulo, o qual teve início em junho de 2020. Com as taxas de incidência e mortalidade crescentes, a cidade iniciou o plano em fase 2, ou fase de controle, com bandeira laranja. Porém, logo entrou em fase emergencial com bandeira vermelha, ou fase 1, frente à alta no número de óbitos e taxa de ocupação dos leitos hospitalares destinados aos casos de COVID-19 em junho de 2020, que durou 21 dias. Verificou-se então uma redução

na taxa de transmissão da COVID-19, a qual permaneceu baixa (Rt abaixo de 1), entre os meses de julho a outubro de 2020, sugerindo que houve uma boa aderência da população às medidas de prevenção após a primeira fase emergencial. Em seguida, a cidade passou por uma fase de flexibilização e abertura das atividades comerciais, que culminaram num aumento de número de casos, óbitos e hospitalizações em novembro e dezembro de 2020.

No primeiro capítulo, também reportamos que em Campinas houve uma tendência da população em diminuir a aderência às NPIs à medida que estas se tornaram menos estritas, assim como foi descrito na literatura, a nível nacional (Fracalossi de Moraes *et al.*, 2022). Em março de 2021, após a introdução da variante Gamma, Campinas atingiu seu pico no número de mortes, com cerca de 300 mortes por COVID-19 a cada 100 mil habitantes. Entretanto, mesmo com o aumento do nível de estringência das NPIs e adoção de nova fase vermelha do plano SP, não houve redução na média de isolamento social, sugerindo uma diminuição da aderência populacional às medidas protetivas impostas pelo governo, algo que também foi visto em outros países, desenvolvidos e subdesenvolvidos (Agyapon-Ntra e McSharry, 2023). Este fenômeno pode estar associado a fatores econômicos, sociais, ou ainda psicológicos, como o cansaço, mental e fadiga psicológica induzidos pela pandemia (Agyapon-Ntra e McSharry, 2023; Petherick *et al.*, 2021). A OMS definiu como ‘fadiga pandêmica’ uma desmotivação da população em seguir as medidas de proteção, que aumenta à medida que as restrições são prolongadas, e que envolve emoções, experiências e percepções. Uma das características reportadas por alguns países foi, inclusive, a diminuição do interesse em manter-se informado sobre a doença (Organização Mundial da Saúde, 2020c).

A diminuição da aderência às NPIs ainda em 2020, também esteve associada a uma percepção da população de que estariam protegidos após a primeira infecção, o que não estava necessariamente correto. Alguns estudos realizados nos Estados Unidos, por exemplo, envolvendo mais de 150 mil participantes, mostraram uma proteção de pelo menos 77% após infecção natural, entre 2020 e início de 2021. Em outros países como Qatar, Itália, Dinamarca e Reino Unido, foi observada proteção de ao menos 80% também em 2020 (Pilz *et al.*, 2022). Todavia, os primeiros casos de reinfecções reportados enfatizaram a necessidade do acompanhamento genômico do vírus, continuidade das NPIs, e suscitaram discussões a respeito da durabilidade da resposta imune frente ao SARS-CoV-2.

Com o avanço das vacinações, o número de casos por dia, assim como o número de mortes, diminuiu drasticamente, chegando a 0 em alguns dias no estado de São Paulo em 2021 (Brasil, 2023). Em Campinas, foi observado uma cobertura vacinal acima de 69% (duas doses ou dose única) em todos os distritos de saúde até fevereiro de 2022, e uma diminuição expressiva no número de casos confirmados de COVID-19 entre agosto e dezembro de 2021. A quantidade de pessoas que receberam a primeira dose de reforço, por outro lado, ainda estava abaixo de 50% em janeiro de 2022, quando ocorreu a introdução das diferentes linhagens da Omicron na cidade. Diferentes estudos demonstraram a alta capacidade da variante Omicron e sublinhagens, como a BA.1 e BA.2, em escapar da resposta imune de anticorpos neutralizantes, resultando na diminuição da efetividade das vacinas contra infecções assintomáticas e sintomáticas (Andrews *et al.*, 2022; Pérez-Then *et al.*, 2022; Lyke *et al.*, 2022; Lau *et al.*, 2023).

A incidência de casos de COVID-19 em Campinas em janeiro de 2022 chegou a 1028,5 para cada 100.000 habitantes, sendo o número de novos casos mensais mais alto até este período. Também foi visto aumento da disseminação viral entre dezembro de 2021 e janeiro de 2022, associado com o nível de estringência estadual mais baixo até então. Porém, assim como reportado na literatura, não houve aumento proporcional de casos graves e fatais no início de 2022, sugerindo que a vacinação contra a COVID-19 na cidade realizada até o momento, foi essencial para proteger a população de formas graves da doença.

Outro fator importante observado nos resultados foi uma diferença na mortalidade entre os distritos de saúde nos períodos mais críticos da pandemia, quando foi necessário a implementação das fases de emergência. Algumas regiões de maior vulnerabilidade social em Campinas, reportaram maior mortalidade em relação a outras, como os distritos Sul e Sudoeste. O Índice Paulista de Vulnerabilidade Social (IPVS) aborda uma variedade de questões como a renda, o número de pessoas por residência, e alfabetização e idade dos responsáveis por residência, gerando um índice de classificações que vai de níveis de vulnerabilidade baixíssima, a multo alta (Fundação SEAD, 2010). Dentro da região que abrange o distrito Sul, por exemplo, foi reportado pelo SEAD em 2010, a existência de bairros com vulnerabilidade social alta ou muito alta, incluindo favelas e comunidades urbanas (Fundação SEAD, 2010). Dessa forma, ressalta-se que a realização de

estudos que levem em consideração fatores sociais e econômicos são importantes para um melhor entendimento da evolução e do combate às pandemias.

O estudo apresentado no capítulo 1 possui algumas limitações. Primeiramente, a quantidade de amostras sequenciadas por semana epidemiológica não atingiu 0,5-1% do total de casos reportados em todas as semanas incluídas no estudo como desejado a princípio, ressaltando que as amostras foram incluídas no estudo por conveniência. Desse modo, podemos ter perdido dados de diversidade genética viral de outras linhagens que circularam no estado de São Paulo. Segundo, em sua maioria, as amostras sequenciadas foram da comunidade da Unicamp, incluindo servidores públicos e estudantes. Portanto, não representam todos os distritos de saúde de Campinas de forma homogênea. Por fim, existem muitos fatores que podem influenciar a disseminação do vírus, como características individuais, *status* vacinal e fatores socioeconômicos, que não foram avaliados no estudo, mas podem ser futuramente coletados para o preparo do artigo.

Seguindo a linha do tempo da pandemia da COVID-19, ainda em 2020, também era importante saber se pessoas infectadas poderiam se reinfectar e como funcionaria a resposta imunológica de memória frente a esse vírus. Dentro das situações clínico-epidemiológicas estudadas nesse trabalho, foram observados casos suspeitos de reinfecção em profissionais de saúde da comunidade da Unicamp desde maio de 2020. Considerando as limitações enfrentadas na época, como a disponibilidade e viabilidade de amostras residuais, disponibilidade de reagentes para sequenciamento genômico, e a necessidade de cuidados com os profissionais da saúde que se encontravam na linha de frente, os primeiros casos suspeitos de reinfecções avaliados foram classificados de acordo com as orientações provisórias estabelecidas pela OPAS em 2020, cujo objetivo era de incentivar a coleta de evidências sobre os casos de reinfecção por SARS-CoV-2, para a ampliação do conhecimento, prevenção, controle e manejo clínico da COVID-19.

Em Campinas, observamos casos suspeitos de reinfecção em profissionais de saúde da comunidade da Unicamp desde maio de 2020. O capítulo 2 reporta 4 casos de reinfecção por linhagens não-VOC em profissionais de saúde nesse período. Em contraste, um estudo realizado entre março de 2020 e março de 2022, na cidade de São Paulo, acompanhou uma coorte de profissionais de saúde dos quais 5.865 testaram positivo para SARS-CoV-2 (23%), e não foram observados

casos de reinfecções em 2020. Porém, entre dezembro de 2020 e março de 2021, o número subiu para 7 casos, em uma época em que circulavam linhagens não-VOC e variantes de interesse e de preocupação, como a Zeta e a Gamma (Guedes *et al.*, 2023).

Também destacamos a presença da mutação D614G nas linhagens identificadas nesse estudo, a qual foi relacionada ao aumento da transmissibilidade do vírus e que passou a ser mais frequente nos genomas de SARS-CoV-2 no início da pandemia (Korber *et al.*, 2020; Plante *et al.*, 2021). Durante as investigações dos casos, observamos a presença de partículas virais viáveis nas amostras de *swab* nasofaríngeo dos pacientes, fornecendo argumentos a favor de que indivíduos reinfectados produzem partículas virais capazes de infectar outras pessoas.

Além disso, curiosamente, um dos casos apresentou infecção e reinfecção pela linhagem B.1.1.28, mesmo após remissão dos sintomas, diagnóstico molecular negativo entre as infecções, e isolamento viral negativo a partir da amostra de *swab* negativa. A paciente em questão teve teste de IgG e IgM negativos. Estudos posteriores também evidenciaram a possibilidade de casos de reinfecções pela mesma linhagem, com algumas pequenas diferenças nos genomas, ou por linhagens muito semelhantes, levantando questionamentos a respeito da durabilidade da resposta imunológica gerada (Gularte *et al.*, 2021; Sevillano *et al.*, 2021; Rodríguez-Grande *et al.*, 2021; Ren *et al.*, 2022). Dessa forma, o capítulo 2 reforçou a necessidade do uso de EPIs, principalmente por pessoas altamente expostas como profissionais de saúde, e distanciamento social mesmo após a infecção natural, respondendo a algumas perguntas que surgiram em nossa comunidade na época.

Vale ressaltar que a infecção desses profissionais pode não estar necessariamente relacionada ao ambiente hospitalar, podendo estes adquirir a infecção na comunidade. Foi demonstrado anteriormente em uma coorte de São Paulo, uma associação entre a soropositividade para o vírus a fatores como menor escolaridade, uso de transporte público para ir ao trabalho e trabalhar com os serviços de limpeza ou segurança, um exemplo de maior risco relacionada a fatores sociais na realidade brasileira (Costa *et al.*, 2021).

Dessa forma, embora os casos de reinfecção tenham sido raros no primeiro ano da pandemia, tais eventos aumentaram significantemente com o surgimento de novas variantes virais e o acúmulo de mutações na proteína Spike

(Dhar *et al.*, 2021; Nachmias *et al.*, 2020; Selhorst *et al.*, 2021; Tillett *et al.*, 2021). Observamos na comunidade da Unicamp ao menos 51 casos de reinfecções, principalmente em janeiro e fevereiro de 2022 com a chegada da Omicron. Observamos maior frequência de casos de reinfecções em profissionais de saúde, corroborando com o que tem sido reportado na literatura no Brasil (Costa *et al.*, 2021; Guedes *et al.*, 2023).

Com o advento das VOCs, potenciais clínicos e epidemiológicos, e fatores determinantes para a transmissão na população de Campinas passaram a ser investigados, além de acompanhamento de casos suspeitos de VOC em indivíduos vacinados, pessoas previamente expostas, e reinfecções. Os resultados aqui apresentados mostram os primeiros casos da variante Gamma em Campinas no início de 2021, a qual passou a predominar nos sequenciamentos das amostras até o mês de maio. Esta variante possui um conjunto de mutações, entre as quais, mutações que aumentam a transmissibilidade do vírus (D614G, N501Y) e favorecem a evasão de anticorpos neutralizantes, das classes I e II (E484K, K417T) (Harvey *et al.*, 2021).

Também são mostrados casos da VOI Zeta em mais de 50% das amostras de Campinas avaliadas em dezembro de 2020. Essa variante, que foi identificada pela primeira vez nas amostras da cidade em julho, apresentou um aumento da frequência a partir de outubro. Genomas de Zeta foram sequenciados de julho de 2020 a março de 2021, em casos leves (n=45, dos quais 3 foram casos de reinfecções) e graves (n=3, todos foram a óbito) de COVID-19 em Campinas. A mutação E484K presente na proteína Spike (região da RBD) na variante Zeta, é associada ao escape do vírus a parte dos anticorpos neutralizantes, e aos tratamentos com anticorpos monoclonais (Andreano *et al.*, 2021; Greaney *et al.*, 2021; Weisblum *et al.*, 2020), o que pode ter favorecido o aumento do número de casos nesse período na cidade. Apesar de não ter atingido mais de 75% de frequência nas amostras avaliadas, essa variante pode ter contribuído com o impacto da doença nos sistemas de saúde e na população.

A região RBD e a região do domínio N-terminal são alvos primários de anticorpos neutralizantes, e mutações nesses locais podem afetar esse braço da resposta imune (Piccoli *et al.*, 2020). No capítulo 3, foi feito um estudo de âmbito imunológico para avaliar possíveis efeitos da nova variante Gamma na resposta de anticorpos neutralizantes, utilizando amostras de plasma de pessoas previamente

infectadas ou vacinadas, comparando com a linhagem ancestral B. Para isso, foi realizado o isolamento da Gamma a partir de amostras oriundas de pacientes de Manaus, Amazonas (Faria *et al.*, 2021), e produzidos dois estoques de vírus que foram sequenciados e geneticamente caracterizados.

Desse modo, foi possível observar uma diminuição da capacidade neutralizante de anticorpos gerados por resposta policlonal frente à Gamma em pessoas previamente infectadas com uma linhagem anterior a esta. Além disso, investigamos a capacidade neutralizante dos anticorpos após uma única dose, duas doses, e duas doses 5 meses depois da vacina de vírus inativado CoronaVac, onde foi visto que a resposta diminuía com o tempo em ambas as linhagens testadas. Porém, a neutralização decaiu significativamente frente a Gamma, em comparação com a B, chegando a níveis não detectáveis nas amostras de pessoas que haviam recebido apenas a primeira dose da vacina (coleta após 20 a 23 dias).

Com o avanço da pandemia e disseminação do vírus, variantes virais com maior capacidade de transmissão e evasão de anticorpos neutralizantes passaram a ser identificadas, levantando questões a respeito da possibilidade de transmissão por vacinados e da eficácia de terapias utilizando anticorpos monoclonais. Estudos mostraram que mutações como a K417N/T, E484K, e a N501Y apresentaram resistência frente a neutralização por anticorpos presentes no soro de indivíduos que receberam as vacinas de mRNA como a da Pfizer-BioNTech ou a da Moderna, ou ainda de indivíduos que receberam a vacina de vetor de adenovírus, ChAdOx1 (Garcia-Beltran *et al.*, 2021). Além disso, foi visto que a quantidade de anticorpos neutralizantes diminui com o tempo, cerca de 6 a 8 meses pós vacinação com vacinas de mRNA (Pfizer-BioNTech e mRNA-1273 Moderna), e um pouco mais estável em vacinações com a Ad26.COV2.S (Johnson & Johnson–Janssen), sendo necessárias doses adicionais, ou “boosters” (Collier *et al.*, 2021).

Dessa forma, no capítulo 3 são apresentadas evidências de que a variante Gamma, assim como observado em estudos que investigaram novas variantes virais em outros locais do mundo, poderia escapar de parte dos anticorpos neutralizantes (Fernández *et al.*, 2022; Harvey *et al.*, 2021; Hoffmann *et al.*, 2021). Portanto, a continuidade da rede de transmissão viral e evolução do vírus, favorecendo o surgimento das novas variantes, poderia ser um fator de risco mesmo com o avanço da cobertura vacinal, que deveriam acontecer o quanto antes e em sincronia com as NPIs.

Além da imunidade humoral, que é a mediada pelos anticorpos e células B de memória, existe ainda a imunidade celular, a qual envolve a ativação e ação de células imunes especializadas, como os linfócitos T. Estudos têm mostrado que a resposta mediada por células T após a vacinação tem um papel importante no combate à doença grave e óbitos ocasionados pela COVID-19 (Wherry e Barouch, 2022). Foi visto que essas células continuam presentes nos indivíduos por um período de ao menos 8 meses e apresentaram reatividade cruzada entre algumas variantes virais como a Alpha, a Beta e a Delta, após imunização com as vacinas de mRNA e a Ad26.COV2.S (Collier *et al.*, 2021). Uma vez que a ação das células T citotóxicas, ou T CD8, acontece após o vírus entrar na célula hospedeira, esse braço da resposta imune não impede que a infecção ocorra, mas pode barrar a disseminação do vírus pelo corpo e progressão da doença (Wherry e Barouch, 2022).

No capítulo 3 também são apresentados os resultados da investigação de dois surtos independentes da VOC Alpha, ambos na mesma região de Campinas, onde a maioria das pessoas acometidas haviam sido vacinadas com duas doses da vacina CoronaVac, ou uma dose da AstraZeneca (ChAdOx1). Nesse estudo, foram observados sintomas leves, mesmo sendo uma maioria de pessoas de grupo de risco (60 anos), e uma taxa de fatalidade muito baixa, em concordância com a literatura (Hyams *et al.*, 2021; Jara *et al.*, 2021; Tanriover *et al.*, 2021). Seguindo a investigação, foi possível mostrar que a quantidade de anticorpos neutralizantes nas amostras dos surtos não tinha uma relação direta com a presença ou não de sintomas. Indivíduos vacinados e sintomáticos apresentaram uma taxa de neutralização maior que aqueles vacinados assintomáticos.

No geral, os resultados apresentados no capítulo 3 desta tese corroboram com estudos da época, e posteriores, que relatam um declínio da efetividade das vacinas na prevenção de infecção sintomática com o tempo, e com o advento das variantes virais, porém a proteção frente à doença grave é mantida (Andrews, Tessier, *et al.*, 2022; Bedston *et al.*, 2022; Chemaitelly *et al.*, 2021; Corrao *et al.*, 2022; Self *et al.*, 2021; Suah *et al.*, 2022). Assim, os resultados reforçaram a importância da vacinação, mesmo diante das novas variantes, e a necessidade de manter o distanciamento social e o uso de máscaras para obter melhores resultados. Além disso, foi ressaltada a importância de investigar a resposta imune celular frente a esse vírus para avaliação da efetividade vacinal, visto que a resposta de células T

tem maior duração da proteção, sendo importante para minimizar a severidade clínica e evitar casos graves de COVID-19 em pessoas vacinadas, como foi demonstrado posteriormente (Moss, 2022; Zhang *et al.*, 2022).

No contexto da resposta imunológica ao SARS-CoV-2, nesta tese, apresentamos um relato de caso de infecção persistente pela variante Gamma em um paciente cujo sistema imunológico e as respostas inflamatórias, bem como a sobrevivência celular, eram prejudicados devido a um polimorfismo de nucleotídeo único no gene NFκB1. Sabe-se que pacientes imunocomprometidos correm risco de desenvolver infecção persistente, e atualmente não existem tratamentos específicos (Brown *et al.*, 2022; Yang, B. *et al.*, 2021).

No relato aqui apresentado, a paciente esteve infectada por ao menos 124 dias, sendo tratada com plasma convalescente e tendo um alívio dos sintomas, e posteriormente recebeu leite materno oriundo de uma mãe vacinada apresentando resultado negativo na RT-PCR, 5 dias após o início do tratamento. Sugerimos, portanto, que o leite materno pode ter agido na mucosa intestinal, neutralizando o vírus. Sabe-se que anticorpos IgA no leite materno podem conferir proteção sistêmica contra diversos patógenos respiratórios, e são secretadas no início da infecção pelo SARS-CoV-2, seguido de IgM e IgG. Essas imunoglobulinas são essenciais para a seleção do microbioma intestinal e a regulação da resposta imune (Asahi-Ozaki *et al.*, 2004; Atyeo e Alter, 2021; Sterlin *et al.*, 2021; Sun, L. *et al.*, 2021). Porém, ressaltamos que outros fatores podem ter auxiliado no processo de cura da paciente, além do leite materno.

Com esse relato de caso, também apresentamos outros achados relevantes. Primeiramente, não houve hiper inflamação na paciente durante os 124 dias de infecção, sendo observado baixos níveis de expressão de citocinas inflamatórias. A produção de citocinas como os IFNs, interleucinas e TNF, faz parte da resposta imune inata do organismo, as quais são componentes da primeira linha de defesa frente aos vírus (Diamond e Kanneganti, 2022). Infecções persistentes pelo SARS-CoV-2 têm sido observadas em pacientes imunossuprimidos que apresentam baixa expressão de citocinas inflamatórias (Yang, B. *et al.*, 2021). Por outro lado, o desequilíbrio na produção destas está associado a sintomas graves em pacientes com COVID-19 (Ramos-Casals, Brito-Zerón e Mariette, 2021; Diamond e Kanneganti, 2022).

Outro achado interessante foi a falta de evidências de evolução do vírus na paciente, ou *intra host*. Este é um ponto importante para investigações futuras, e levanta algumas hipóteses. A mutação em NFκB pode afetar a frequência de mutações no genoma do vírus? Primeiramente, as proteínas traduzidas a partir de NFκB atuam como fatores de transcrição, controlando a expressão gênica de diversas proteínas a depender do estímulo recebido. Na infecção viral, por exemplo, a ativação de fatores de transcrição como os da família NFκB, resulta na produção de diversas citocinas, inclusive de IFNs (Hayden e Gosh, 2011). Dessa forma, pode ocorrer interferências na produção de INFs, que constituem importantes antivirais (McNab *et al*., 2015).

Entre as diversas funções dos IFNs, estão incluídas a inibição da replicação viral e ativação de mecanismos antivirais intracelulares como as enzimas desaminases (McNab *et al*., 2015). Enzimas APOBEC, como a APOBEC3G, são desaminases induzidas por interferon, e a princípio podem ajudar na defesa celular inata ao editar RNA viral substituindo C por U, com o intuito de interferir na replicação do genoma do vírus. Todavia, esse padrão de mutações é frequente nos genomas do SARS-CoV-2, sugerindo que a ação dessas enzimas pode favorecer a variabilidade genética viral, como observado no vírus HIV por exemplo (Harris *et al.*, 2003; Ajoge *et al.,* 2023; Kim *et al.*, 2022).

Sendo assim, a pequena frequência de mutações no genoma de SARS-CoV-2 apresentada pela paciente do estudo de caso pode estar relacionada com a baixa expressão de citocinas como os IFNs, e consequentemente baixos níveis de edição genética do genoma viral por desaminases como a APOBEC3G. Mais investigações sobre essa relação são necessárias, inclusive em pacientes imunossuprimidos susceptíveis a infecções persistentes pelo vírus.

Em resumo, esta tese de doutorado abordou diversos aspectos da pandemia da COVID-19 em Campinas, durante seus dois primeiros anos. Desde o início da disseminação do SARS-CoV-2 na cidade até o surgimento de novas variantes, implicações das medidas preventivas, a dinâmica da transmissão, e vacinação. Além disso, relatamos um caso de infecção persistente incomum que destacou a importância de fatores genéticos na resposta imunológica, e a necessidade de pesquisas que busquem um tratamento adequado para esses pacientes.

Os achados aqui apresentados fornecem *insights* para o combate contínuo à pandemia, enfatizando a necessidade de medidas preventivas consistentes, e reforça a importância da vigilância genômica em associação com a epidemiológica, no sentido de compreender padrões de transmissão; contribuir para a adoção de ações de prevenção e controle; e nortear pesquisas sobre imunoprevenção, diagnóstico e tratamento. Ressalta ainda a necessidade de fortalecimento de políticas de saúde pública e parcerias com a academia, e aponta perspectivas futuras de legado pós-pandêmico para a vigilância genômica.

6 CONCLUSÕES

Na presente tese, foram abordados diferentes aspectos da pandemia da COVID-19 em Campinas durante seus dois primeiros anos. Com os resultados apresentados, podemos concluir:

1. Medidas de proteção não farmacológicas foram efetivas para diminuir a transmissão comunitária de SARS-CoV-2 quando há adesão populacional.

2. A campanha de vacinação contra a COVID-19 permitiu a diminuição de casos graves e óbitos em Campinas.

3. Partículas virais viáveis de SARS-CoV-2 podem ser isoladas de amostras de pessoas previamente imunizadas.

4. Pessoas podem ser reinfectados por linhagens não-VOC de SARS-CoV-2.

5. Mutações na proteína S de SARS-CoV-2 favorecem o escape da ação de anticorpos neutralizantes.

6. SARS-CoV-2 pode causar infecção persistente em pacientes imunocomprometidos, e o leite materno rico em IgA pode ser benéfico no tratamento dessas pessoas.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJOGE, H. O. *et al.* Antiretroviral APOBEC3 cytidine deaminases alter HIV-1 provirus integration site profiles. **Nature communications**, v. 14, n. 16, p. 1-16, 2023.

Agência de Saúde Pública da Inglaterra (Public Health England – PHE). **Investigation of SARS-CoV-2 variants of concern: technical briefings**. Londres: PHE, 2020. Disponível em: https://www.gov.uk/government/publications/investigation-of-novel-sars-cov-2-variant-variant-of-concern-20201201. Acesso em: 21 mar. 2023.

AGYAPON-NTRA, K.; MCSHARRY, P. E. A global analysis of the effectiveness of policy responses to COVID-19. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 1–15, 2023.

AHMED, S. F.; QUADEER, A. A.; MCKAY, M. R. SARS-CoV-2 T Cell Responses Elicited by COVID-19 Vaccines or Infection Are Expected to Remain Robust against Omicron. **Viruses**, v. 14, n. 1, 2022.

ANDREANO, E. *et al.* SARS-CoV-2 escape from a highly neutralizing COVID-19 convalescent plasma. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 36, 2021.

ANDREWS, N.; TESSIER, E.; *et al.* Duration of Protection against Mild and Severe Disease by Covid-19 Vaccines. **The New England journal of medicine**, v. 386, n. 4, p. 340–350, 2022.

ANDREWS, N.; STOWE, J.; *et al.* Covid-19 Vaccine Effectiveness against the Omicron (B.1.1.529) Variant. **The New England journal of medicine**, v. 386, n. 16, p. 1532–1546, 2022.

ARAUJO, D. B. *et al*. SARS-CoV-2 isolation from the first reported patients in Brazil and establishment of a coordinated task network. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 115, n. e200342, p. 1-8.

ASAHI-OZAKI, Y.; YOSHIKAWA, T.; IWAKURA, Y.; SUZUKI, Y.; TAMURA, S.-I.; KURATA, T.; SATA, T. Secretory IgA antibodies provide cross-protection against

infection with different strains of influenza B virus. **Journal of medical virology**, v. 74, n. 2, p. 328–335, 2004.

JORGE, D. C. P. *et al.* Assessing the nationwide impact of COVID-19 mitigation policies on the transmission rate of SARS-CoV-2 in Brazil. **Epidemics**, v. 35, p. 1-12, 2021.

ATYEO, C.; ALTER, G. The multifaceted roles of breast milk antibodies. **Cell**, v. 184, n. 6, p. 1486–1499, 2021.

BAI, Y.; YAO, L.; WEI, T.; TIAN, F.; JIN, D.-Y.; CHEN, L.; WANG, M. Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 323, n. 14, p. 1406–1407, 2020.

BAKER, R. E. *et al.* Infectious disease in an era of global change. **Nature reviews. Microbiology**, v. 20, n. 4, p. 193–205, 2022.

BANHOLZER, N.; LISON, A.; ÖZCELIK, D.; STADLER, T.; FEUERRIEGEL, S.; VACH, W. The methodologies to assess the effectiveness of non-pharmaceutical interventions during COVID-19: a systematic review. **European journal of epidemiology**, v. 37, n. 10, p. 1003–1024, 2022.

BASHOR, L. *et al.* SARS-CoV-2 evolution in animals suggests mechanisms for rapid variant selection. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 44, p. 1-10, 2021.

BAYATI, A. *et al.* SARS-CoV-2 infects cells after viral entry via clathrin-mediated endocytosis. **Journal of Biological Chemistry**, v. 296, n. 100306, p. 1-12, 2021.

BEDSTON, S. *et al.* COVID-19 vaccine uptake, effectiveness, and waning in 82,959 health care workers: A national prospective cohort study in Wales. **Vaccine**, v. 40, n. 8, p. 1180–1189, 2022.

BITTAR, C. *et al.* The Emergence of the New P.4 Lineage of SARS-CoV-2 With Spike L452R Mutation in Brazil. **Frontiers in public health**, v. 9, p. 745310, 2021.

BLUMENTHAL, D.; FOWLER, E. J.; ABRAMS, M.; COLLINS, S. R. Covid-19 - Implications for the Health Care System. **The New England journal of medicine**, v.

383, n. 15, p. 1483–1488, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Vacinas – Covid-19**. Brasília: Ministério da Saúde; Agência Nacional de Vigilância Sanitária 2023. Disponível em: https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas/vacinas. Acesso em: 18 set. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vacinometro COVID-19**. Disponível em: https://infoms.saude.gov.br/extensions/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19/SEIDIGI_DEMAS_Vacina_C19.html. Acesso em: 23 mar. 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Esquemas Vacinais.** Disponível em: https://www.gov.br/saude/pt-br/coronavirus/vacinas/pni/pni. Acesso em: 19 abr. 2023.

BOSCH, B. J.; ZEE, R. VAN DER; HAAN, C. A. M. DE; ROTTIER, P. J. M. The coronavirus spike protein is a class I virus fusion protein: structural and functional characterization of the fusion core complex. **Journal of virology**, v. 77, n. 16, p. 8801–8811, 2003.

BOUMAN, T.; STEG, L.; DIETZ, T. Insights from early COVID-19 responses about promoting sustainable action. **Nature Sustainability**, v. 4, n. 3, p. 194–200, 2020.

BRITO, A. F. *et al.* Global disparities in SARS-CoV-2 genomic surveillance. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 7003, 2022.

BROOKS, J. T.; BUTLER, J. C. Effectiveness of Mask Wearing to Control Community Spread of SARS-CoV-2. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 325, n. 10, p. 998–999, 2021.

BROWN, K.; YAHYOUCHE, A.; HAROON, S.; CAMARADOU, J.; TURNER, G. Long COVID and self-management. **The Lancet**, v. 399, n. 10322, p. 355, 2022.

BUCHAN, S. A. *et al.* Estimated Effectiveness of COVID-19 Vaccines Against Omicron or Delta Symptomatic Infection and Severe Outcomes. **JAMA network open**, v. 5, n. 9, p. e2232760, 2022.

CALLAWAY, E. **Tuberculosis genomes track human history**. Disponível em:

http://dx.doi.org/10.1038/nature.2015.16733. Acesso em: 29 set. 2023.

CALLOW, K. A.; PARRY, H. F.; SERGEANT, M.; TYRRELL, D. A. The time course of the immune response to experimental coronavirus infection of man. **Epidemiology and infection**, v. 105, n. 2, p. 435–446, 1990.

CAMPBELL, F. *et al.* Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2021. **Euro surveillance**, v. 26, n. 24, 2021.

CAMPINAS. Prefeitura Municipal de Campinas. **BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO SEMANAL. INFORME DO DEPARTAMENTO DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE, EDIÇÃO 42, 26 de dezembro de 2021.** Campinas: Prefeitura Municipal de Campinas; Secretaria de Saúde; Departamento de Vigilância em Saúde, 2021.

CANDIDO, D. S. *et al.* Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. **Science**, v. 369, n. 6508, p. 1255–1260, 2020.

CANTUTI-CASTELVETRI, L. *et al.* Neuropilin-1 facilitates SARS-CoV-2 cell entry and infectivity. **Science**, v. 370, n. 6518, p. 856-860, 2020.

CASTRO, M. C. *et al*. Spatiotemporal pattern of COVID-19 spread in Brazil. **Science**, v. 372, n. 6544, p. 821–826, 2021.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Past flu pandemics**. Estados Unidos: Centers for Disease Control and Prevention; National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), 2018. Disponível em: https://www.cdc.gov/flu/pandemic-resources/basics/past-pandemics.html. Acesso em: 29 set. 2023.

CERQUEIRA-SILVA, T. *et al.* Effectiveness of CoronaVac, ChAdOx1 nCoV-19, BNT162b2, and Ad26.COV2.S among individuals with previous SARS-CoV-2 infection in Brazil: a test-negative, case-control study. **The Lancet infectious diseases**, v. 22, n. 6, p. 791–801, 2022.

CHAUDHARY, N.; WEISSMAN, D.; WHITEHEAD, K. A. mRNA vaccines for infectious diseases: principles, delivery and clinical translation. **Nature reviews. Drug discovery**, v. 20, n. 11, p. 817–838, 2021.

CHEMAITELLY, H. *et al.* Waning of BNT162b2 Vaccine Protection against SARS-CoV-2 Infection in Qatar. **The New England journal of medicine**, v. 385, n. 24, p. e83, 2021.

CHEN, L. *et al.* Global landscape of SARS-CoV-2 genomic surveillance and data sharing. **Nature genetics**, v. 54, p. 499-507, 2022.

CHEN, D. *et al.* ORF3a of SARS-CoV-2 promotes lysosomal exocytosis-mediated viral egress. **Developmental Cell**, v. 56, n. 23, p. 3250–3263, 2021.

CHEN, S. *et al.* fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. **Bioinformatics**, v. 34, n. 17, p-i884-i890, 2018.

CHERIAN, S. *et al.* SARS-CoV-2 Spike Mutations, L452R, T478K, E484Q and P681R, in the Second Wave of COVID-19 in Maharashtra, India. **Microorganisms**, v. 9, n. 7, p. 1-11, 2021.

CHOUDHARY, M. C. *et al*. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Sequence Characteristics of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Persistence and Reinfection. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 74, n. 2, p. 237–245, 2022.

CHU, D. K. *et al.* Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 395, n. 10242, p. 1973–1987, 2020.

COLLIER, A.-R. Y. *et al.* Differential Kinetics of Immune Responses Elicited by Covid-19 Vaccines. **The New England journal of medicine**, v. 385, n. 21, p. 2010–2012, 18 nov. 2021.

Conselho Nacional de Secretários de Saúde (CONASS). **PAINEL NACIONAL: COVID-19**. Brasília: CONASS; CIEGES. Disponível em: https://www.conass.org.br/painelconasscovid19/. Acesso em: 20 de mar. de 2023.

CORI, A. *et al.* A New Framework and Software to Estimate Time-Varying Reproduction Numbers During Epidemics. **American Journal of Epidemiology**, v. 179, n. 9, p. 1505-1512, 2013.

CORMAN, V. M. *et al*. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. **Euro Surveillance**, v. 25, n. 3, p. 1-8, 2020.

CORONAVIRIDAE STUDY GROUP OF THE INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. **Nature microbiology**, v. 5, n. 4, p. 536–544, 2020.

CORRAO, G. *et al.* Persistence of protection against SARS-CoV-2 clinical outcomes up to 9 months since vaccine completion: a retrospective observational analysis in Lombardy, Italy. **The Lancet infectious diseases**, v. 22, n. 5, p. 649–656, 2022.

COSTA, S. F. *et al.* Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Seroprevalence and Risk Factors Among Oligo/Asymptomatic Healthcare Workers: Estimating the Impact of Community Transmission. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 73, n. 5, p. e1214–e1218, 2021.

COUTINHO, R. M. *et al.* Model-based estimation of transmissibility and reinfection of SARS-CoV-2 P.1 variant. **Communication & medicine**, v. 1, p. 48, 2021.

COVID-19 FORECASTING TEAM. Past SARS-CoV-2 infection protection against re-infection: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 401, n. 10379, p. 833–842, 2023.

CUCINOTTA, D.; VANELLI, M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. **Acta bio-medica: Atenei Parmensis**, v. 91, n. 1, p. 157–160, 2020.

DALY, J. *et al.* Neuropilin-1 is a host factor for SARS-CoV-2 infection. **Science**, v. 370, n. 6518, p. 861-865, 2020.

DANECEK, P. *et al.* Twelve years of SAMtools and BCFtools. **GigaScience**, v. 10, n. 2, p. 1-4, 2021.

DAVIES, N. G. *et al.* Estimated transmissibility and impact of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. **Science**, v. 372, n. 6538, p. eabg3055, 9 abr. 2021.

DE SOUZA, W. M. *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of the COVID-19

epidemic in Brazil. **Nature Human Behavior**, v. 4, n. 8, p. 856-865, 2020.

DE SOUZA SANTOS, A. A. *et al*. Dataset on SARS-CoV-2 non-pharmaceutical interventions in Brazilian municipalities. **Scientific Data**, v. 8, n. 1, p. 1–6, 2021.

DELAMATER, P. L.; STREET, E. J.; LESLIE, T. F.; YANG, Y. T.; JACOBSEN, K. H. Complexity of the Basic Reproduction Number (R). **Emerging infectious diseases**, v. 25, n. 1, p. 1–4, 2019.

DELAUNE, D. *et al.* A novel SARS-CoV-2 related coronavirus in bats from Cambodia. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 6563, 2021.

DELLICOUR, S. *et al.* A Phylodynamic Workflow to Rapidly Gain Insights into the Dispersal History and Dynamics of SARS-CoV-2 Lineages. **Molecular biology and evolution**, v. 38, n. 4, p. 1608–1613, 2021.

DESINGU, P. A.; NAGARAJAN, K. SARS-CoV-2 Omicron variant is spreading in different parts of the world in three different trends. **Journal of medical virology**, v. 94, n. 6, p. 2354–2356, 2022.

DHAR, M. S. *et al.* Genomic characterization and epidemiology of an emerging SARS-CoV-2 variant in Delhi, India. **Science**, v. 374, n. 6570, p. 995–999, 19 nov. 2021.

DIAMOND, M. S.; KANNEGANTI, T. D. Innate immunity: the first line of defense against SARS-CoV-2. **Nature Immunology**, v. 23, p. 165-176, 2022.

DOMINGO, E. Mechanisms of viral emergence. **Veterinary research**, v. 41, n. 6, p. 38, 2010.

DOS SANTOS, C. V. B. *et al.* The effectiveness of COVID-19 vaccines against severe cases and deaths in Brazil from 2021 to 2022: a registry-based study. **The Lancet Regional Health**, v. 20, p. 1-13, 2023.

DOMINGO, E.; ÁVILA, A. I. DE; GALLEGO, I.; SHELDON, J.; PERALES, C. Viral fitness: history and relevance for viral pathogenesis and antiviral interventions. **Pathogens and disease**, v. 77, n. 2, 2019.

DUGGAN, A. T. *et al.* 17 Century Variola Virus Reveals the Recent History of Smallpox. **Current biology: CB**, v. 26, n. 24, p. 3407–3412, 2016.

EDRIDGE, A. W. D. *et al.* Seasonal coronavirus protective immunity is short-lasting. **Nature medicine**, v. 26, n. 11, p. 1691–1693, 2020.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC). **Cholera worldwide overview**. **Monthly update as of 25 September 2023**. Suécia: ECDC, 2023. Disponível em: https://www.ecdc.europa.eu/en/all-topics-z/cholera/surveillance-and-disease-data/cholera-monthly. Acesso em: 29 set. 2023.

FARIA, N. R. *et al.* Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. **Science**, v. 372, n. 6544, p. 815–821, 21 maio 2021.

FAUCI, A. S.; LANE, H. C. Four Decades of HIV/AIDS - Much Accomplished, Much to Do. **The New England journal of medicine**, v. 383, n. 1, p. 1–4, 2020.

FAUST, C. L.; MCCALLUM, H. I.; BLOOMFIELD, L. S. P.; GOTTDENKER, N. L.; GILLESPIE, T. R.; TORNEY, C. J.; DOBSON, A. P.; PLOWRIGHT, R. K. Pathogen spillover during land conversion. **Ecology letters**, v. 21, n. 4, p. 471–483, 2018.

FEIKIN, D. R. *et al.* Duration of effectiveness of vaccines against SARS-CoV-2 infection and COVID-19 disease: results of a systematic review and meta-regression. **The Lancet**, v. 399, n. 10328, p. 924–944, 2022.

FERDINANDS, J. M. *et al.* Waning 2-Dose and 3-Dose Effectiveness of mRNA Vaccines Against COVID-19-Associated Emergency Department and Urgent Care Encounters and Hospitalizations Among Adults During Periods of Delta and Omicron Variant Predominance - VISION Network, 10 States, August 2021-January 2022. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 71, n. 7, p. 255–263, 2022.

FERNÁNDEZ, J.; BRUNEAU, N.; FASCE, R.; MARTÍN, H. S.; BALANDA, M.; BUSTOS, P.; ULLOA, S.; MORA, J.; RAMÍREZ, E. Neutralization of alpha, gamma, and D614G SARS-CoV-2 variants by CoronaVac vaccine-induced antibodies. **Journal of medical virology**, v. 94, n. 1, p. 399–403, 2022.

FORNI, D.; CAGLIANI, R.; PONTREMOLI, C.; CLERICI, M.; SIRONI, M. The

substitution spectra of coronavirus genomes. **Briefings in bioinformatics**, v. 23, n. 1, 2022.

FRACALOSSI DE MORAES, R.; RUSSELL, L. B.; SANTOS DA SILVA, L. L.; TOSCANO, C. M. Effects of non-pharmaceutical interventions on social distancing during the COVID-19 pandemic: Evidence from the 27 Brazilian states. **PloS one**, v. 17, n. 3, p. e0265346, 2022.

FUNDAÇÃO SISTEMA ESTADUAL DE ANÁLISE DE DADOS – SEAD. Índice Paulista de Vulnerabilidade Social, versão 2010. Disponível em: https://ipvs.seade.gov.br/view/index.php. Acesso em: 28 de mar. de 2024.

GALANTI, M.; SHAMAN, J. Direct Observation of Repeated Infections With Endemic Coronaviruses. **The Journal of infectious diseases**, v. 223, n. 3, p. 409–415, 2021.

GALLO-CAJIAO, E. *et al.* Global governance for pandemic prevention and the wildlife trade. **The Lancet. Planetary health**, v. 7, n. 4, p. e336–e345, 2023.

GALMICHE, S. *et al.* SARS-CoV-2 incubation period across variants of concern, individual factors, and circumstances of infection in France: a case series analysis from the ComCor study. **The Lancet. Microbe**, v. 4, n. 6, p. e409–e417, 2023.

GANGAVARAPU, K. *et al.* Outbreak.info genomic reports: scalable and dynamic surveillance of SARS-CoV-2 variants and mutations. **Nature methods**, v. 20, n. 4, p. 512–522, 2023.

GARCIA-BELTRAN, W. F. *et al.* Multiple SARS-CoV-2 variants escape neutralization by vaccine-induced humoral immunity. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2372–2383.e9, 2021.

GASSEN, N. C. *et al.* SARS-CoV-2-mediated dysregulation of metabolism and autophagy uncovers host-targeting antivirals. **Nature Communications**, v. 12, n. 3818, p. 1-15, 2021.

GENSINI, G. F.; YACOUB, M. H.; CONTI, A. A. The concept of quarantine in history: from plague to SARS. **The Journal of infection**, v. 49, n. 4, p. 257–261, 2004.

GIBB, R.; REDDING, D. W.; CHIN, K. Q.; DONNELLY, C. A.; BLACKBURN, T. M.; NEWBOLD, T.; JONES, K. E. Zoonotic host diversity increases in human-dominated

ecosystems. **Nature**, v. 584, n. 7821, p. 398–402, 2020.

GISAID. *Tracking hCov-19 Variants*, 2021. Disponível em: https://gisaid.org/hcov19-variants/. Acesso em: 16 mar. 2023.

GLATTER, K. A.; FINKELMAN, P. History of the Plague: An Ancient Pandemic for the Age of COVID-19. **The American journal of medicine**, v. 134, n. 2, p. 176–181, 2021.

GHOSH, S. *et al.* β-Coronaviruses Use Lysosomes for Egress Instead of the Biosynthetic Secretory Pathway. **Cell**, v. 183, n. 6, p. 1520–1535, 2020.

GORI MAIA, A. *et al*. The short-term impacts of coronavirus quarantine in São Paulo: The health-economy trade-offs. **PloS one**, v. 16, n. 2, p. e0245011, 2021.

GOVERNO DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Decreto nº 64.994, de 28 de maio de 2020**. Dispõe sobre a medida de quarentena de que trata o Decreto nº 64.881, de 22 de março de 2020, institui o Plano São Paulo e dá providências complementares. São Paulo (cidade), 29 maio 2020.

GRAUDENZI, A. *et al.* Mutational signatures and heterogeneous host response revealed via large-scale characterization of SARS-CoV-2 genomic diversity. **iScience**, v. 24, n. 2, p. 1-10, 2021.

GREANEY, A. J. *et al.* Comprehensive mapping of mutations in the SARS-CoV-2 receptor-binding domain that affect recognition by polyclonal human plasma antibodies. **Cell host & microbe**, v. 29, n. 3, p. 463–476.e6, 2021.

GUAN, W.-J. *et al.* Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **The New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708–1720, 2020.

GUDOWSKA-SAWCZUK, M.; MROCZKO, B. The Role of Nuclear Factor Kappa B (NF-κB) in Development and Treatment of COVID-19: Review. **International journal of molecular sciences**, v. 23, n. 9, 2022.

GUEDES, A. R. *et al.* Reinfection rate in a cohort of healthcare workers over 2 years of the COVID-19 pandemic. **Scientific reports**, v. 13, n. 1, p. 712, 2023.

GUINDON, S. *et al.* New Algorithms and Methods to Estimate Maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the Performance of PhyML 3.0. **Systematic Biology**, v. 59, n. 3, p. 307-321, 2010.

GULARTE, S. J. *et al.* Reinfection cases by closely related SARS-CoV-2 lineages in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 52, n. 4, p. 1881-1885, 2021.

GUO, L. *et al.* SARS-CoV-2-specific antibody and T-cell responses 1 year after infection in people recovered from COVID-19: a longitudinal cohort study. **The Lancet. Microbe**, v. 3, n. 5, p. e348–e356, 2022.

GURBAXANI, B. M. *et al.* Evaluation of different types of face masks to limit the spread of SARS-CoV-2: a modeling study. **Scientific reports**, v. 12, 2022.

GUTIERREZ, B. *et al.* Emergence and widespread circulation of a recombinant SARS-CoV-2 lineage in North America. **Cell host & microbe**, v. 30, n. 8, p. 1112–1123.e3, 10 ago. 2022.

HADFIELD, J. *et al.* Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. **Bioinformatics** , v. 34, n. 23, p. 4121–4123, 2018.

HAMED, S. M. *et al.* Global dynamics of SARS-CoV-2 clades and their relation to COVID-19 epidemiology. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 8435, 2021.

HAN, A. X. *et al.* Phylogenetic Clustering by Linear Integer Programming (PhyCLIP). **Molecular Biology and Evolution**, v. 36, n. 7, p. 1580–1595, 2019.

HARRIS, R. S. *et al.* DNA deamination mediates innate immunity to retroviral infection. **Cell**, v. 113, p. 803-809, 2003.

HARVEY, W. T. *et al.* SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. **Nature reviews. Microbiology**, v. 19, n. 7, p. 409–424, 2021.

HAYDEN, M. S.; GOSH, S. NF-κB in immunobiology. **Cell Research**, v. 21, p. 223-244, 2011.

HELLEBERG, M. *et al.* Persistent COVID-19 in an Immunocompromised Patient Temporarily Responsive to Two Courses of Remdesivir Therapy. **The Journal of**

infectious diseases, v. 222, n. 7, p. 1103–1107, 2020.

HETTLE, D. *et al*. Persistent SARS-CoV-2 infection in immunocompromised patients facilitates rapid viral evolution: Retrospective cohort study and literature review. **Clinical infection in practice**, v. 16, p. 100210, 2022.

HILL, V. *et al.* Progress and challenges in virus genomic epidemiology. **Trends in parasitology**, v. 37, n. 12, p. 1038–1049, 2021.

HILL, V. *et al.* Toward a global virus genomic surveillance network. **Cell Host & Microbe**, v. 31, n. 6, p. 861-873, 2023.

HODCROFT, E. B. *et al.* **Year-letter Genetic Clade Naming for SARS-CoV-2 on Nextstrain.org.** [s.l.]: 2020 Disponível em: https://nextstrain.org/blog/2020-06-02-SARSCoV2-clade-naming. Acesso em: 6 de out. de 2023.

HOFFMANN, M. *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 271–280.e8, 16 abr. 2020.

HOFFMANN, M. *et al.* SARS-CoV-2 variants B.1.351 and P.1 escape from neutralizing antibodies. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2384–2393.e12, 2021.

HOLMES, E. C. *et al.* The origins of SARS-CoV-2: A critical review. **Cell**, v. 184, n. 19, p. 4848–4856, 2021.

HOU, Y. J. *et al.* SARS- CoV-2 reverse genetics reveals a variable infection gradient in the respiratory tract. **Cell**, v. 182, p. 429-446, 2020.

HUANG, C. *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020.

HUANG, Y.; YANG, C.; XU, X.-F.; XU, W.; LIU, S.-W. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. **Acta pharmacologica Sinica**, v. 41, n. 9, p. 1141–1149, 2020.

HUESO, T. *et al.* Convalescent plasma improves overall survival in patients with B-cell lymphoid malignancy and COVID-19: a longitudinal cohort and propensity score

analysis. **Leukemia**, v. 36, n. 4, p. 1025–1034, 2022.

HYAMS, C. *et al.* Effectiveness of BNT162b2 and ChAdOx1 nCoV-19 COVID-19 vaccination at preventing hospitalisations in people aged at least 80 years: a test-negative, case-control study. **The Lancet infectious diseases**, v. 21, n. 11, p. 1539–1548, 2021.

IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. Panorama Censo 2022. Campinas: IBGE, 2022. Disponível em https://censo2022.ibge.gov.br/panorama/. Acesso em: 05 de mar. de 2024.

JACKSON, C. B. *et al.* Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 23, p. 1-80, 2022.

JACKSON, B. *et al.* Generation and transmission of interlineage recombinants in the SARS-CoV-2 pandemic. **Cell**, v. 184, n. 20, p. 5179–5188.e8, 2021.

JARA, A. *et al.* Effectiveness of an Inactivated SARS-CoV-2 Vaccine in Chile. **The New England journal of medicine**, v. 385, n. 10, p. 875–884, 2021.

JESUS, J. G. DE *et al.* Importation and early local transmission of COVID-19 in Brazil, 2020. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, v. 62, p. e30, 2020.

JOHANSSON, M. A. *et al.* SARS-CoV-2 Transmission From People Without COVID-19 Symptoms. **JAMA network open**, v. 4, n. 1, p. e2035057, 2021.

JONES, K. E. *et al.* Global trends in emerging infectious diseases. **Nature**, v. 451, n. 7181, p. 990–993, 2008.

JORGE, D. C. P. *et al.* Assessing the nationwide impact of COVID-19 mitigation policies on the transmission rate of SARS-CoV-2 in Brazil. **Epidemics**, v. 35, p. 1-11, 2021.

JUSTO AREVALO, S. *et al.* Dynamics of SARS-CoV-2 mutations reveals regional-specificity and similar trends of N501 and high-frequency mutation N501Y in different levels of control measures. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 17755, 2021.

KALYAANAMOORTHY, S. *et al.* ModelFinder: fast model selection for accurate phylogenetic estimates. **Nature Methods**, v. 14, p. 587–589, 2017.

KARAGIANNIDIS, C. *et al.* Case characteristics, resource use, and outcomes of 10 021 patients with COVID-19 admitted to 920 German hospitals: an observational study. **The Lancet. Respiratory medicine**, v. 8, n. 9, p. 853–862, 2020.

KARIM, S. S. A.; KARIM, Q. A. Omicron SARS-CoV-2 variant: a new chapter in the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, v. 398, n. 10317, p. 2126–2128, 2021.

KATOH, K.; STANDLEY, D. M. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. **Molecular Biology and Evolution**, v. 30, n. 4, p. 772-780, 2013.

KEETON, R. *et al.* Prior infection with SARS-CoV-2 boosts and broadens Ad26.COV2.S immunogenicity in a variant-dependent manner. **Cell Host Microbe**, v. 29, n. 11, p. 1611-1619e, 2021.

KEMP, S. A. *et al.* SARS-CoV-2 evolution during treatment of chronic infection. **Nature**, v. 592, n. 7853, p. 277–282, 2021.

KEUSCH, G. T. *et al.* Pandemic origins and a One Health approach to preparedness and prevention: Solutions based on SARS-CoV-2 and other RNA viruses. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 119, n. 42, p. e2202871119, 2022.

KIM, D. *et al.* The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. **Cell**, v. 181, n. 4, p. 914–921.e10, 2020.

KIM, K. *et al.* The roles of APOBEC-mediated RNA editing in SARS-CoV-2 mutations, replication and fitness. **Scientific Reports**, v. 12, n. 14972, p. 1-15, 2022.

KOELLE, K. *et al.* The changing epidemiology of SARS-CoV-2. **Science**, v. 375, n. 6585, p. 1116-1121, 2022.

KORBER, B. *et al.* Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. **Cell**, v. 182, n. 4, p. 812–827.e19, 2020.

KYRIAKIDIS, N. C. *et al.* SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates. **NPJ vaccines**, v. 6, n. 1, p. 28, 2021.

LAMERS, M. M.; HAAGMANS, B. L. SARS-CoV-2 pathogenesis. **Nature reviews. Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 270–284, 2022.

LARSSON, A. *et al.* AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. **Bioinformatics**, v. 30, n. 22, p. 3276-3278, 2014.

LAUE, M. *et al.* Morphometry of SARS-CoV and SARS-CoV-2 particles in ultrathin plastic sections of infected Vero cell cultures. **Scientific reports**, v. 11, n. 1, p. 3515, 2021.

LAU, S. K. P. *et al.* Possible Bat Origin of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2. **Emerging infectious diseases**, v. 26, n. 7, 2020.

LAN, J. *et al.* Structure of the SARS- CoV-2 spike receptor- binding domain bound to the ACE2 receptor. **Nature**, v. 581, p. 215-220, 2020.

LAU, J. L. *et al.* Real-world COVID-19 vaccine effectiveness against the Omicron BA.2 variant in a SARS-CoV-2 infection-naive population. **Nature Medicine**, v. 29, p. 348-357, 2023.

LEE, C. Y. *et al.* Prolonged SARS-CoV-2 Infection in Patients with Lymphoid Malignancies. **Cancer discovery**, v. 12, n. 1, p. 62–73, 2022.

LEVINE, B.; KROEMER, G. Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. **Cell**, v. 176, n. 1-2, p. 11-42, 2019.

LI, R. *et al.* Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). **Science**, v. 368, n. 6490, p. 489-493, 2020.

LI, H. *et al.* Efficacy and practice of facemask use in general population: a systematic review and meta-analysis. **Translational psychiatry**, v. 12, n. 1, p. 1–15, 2022.

Li, H. Minimap2: pairwise alignment for nucleotide sequences. **Bioinformatics,** v. 34, n. 18, p. 3094–3100, 2018.

Li, H. *et al.* The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. **Bioinformatics**, v.

25, n. 16, p. 2078–2079, 2009.

LI, H. *et al.* A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. **Bioinformatics**, v. 27, n. 21, p. 2987-2993, 2011.

LI, H.; DURBIN, R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. **Bioinformatics**, v. 25, n. 14, p. 1754-1760, 2009.

LISON, A. *et al.* Effectiveness assessment of non-pharmaceutical interventions: lessons learned from the COVID-19 pandemic. **The Lancet. Public health**, v. 8, n. 4, p. e311–e317, 2023.

LIU, W. J. *et al.* Surveillance of SARS-CoV-2 at the Huanan Seafood Market. **Nature**, p. 1-25, 2023.

LIU, L. *et al.* Striking antibody evasion manifested by the Omicron variant of SARS-CoV-2. **Nature**, v. 602, n. 7898, p. 676–681, 2022.

LIU, X. *et al.* Omicron: a chimera of two early SARS-CoV-2 lineages. **Signal transduction and targeted therapy**, v. 7, n. 1, p. 90, 2022.

LOGUNOV, D. Y. *et al.* Safety and efficacy of an rAd26 and rAd5 vector-based heterologous prime-boost COVID-19 vaccine: an interim analysis of a randomised controlled phase 3 trial in Russia. **The Lancet**, v. 397, n. 10275, p. 671–681, 2021.

LYKE, K. E. *et al.* Rapid decline in vaccine-boosted neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 Omicron variant. **Cell Reports Medicine**, v. 3, n. 100679, p. 1-13, 2022.

LYTRAS, S. *et al*. The animal origin of SARS-CoV-2. **Science**, v. 373, n. 6558, p. 968–970, 27 ago. 2021.

MCMILLEN, T. *et al.* The spike gene target failure (SGTF) genomic signature is highly accurate for the identification of Alpha and Omicron SARS-CoV-2 variants. **Scientific Reports**, v. 12, n. 18968, p. 1-8, 2022.

MCNAB, F. *et al.* Type I interferons in infectious disease. **Nature Reviews**

Immunology, v. 15, p. 87-103, 2015.

MENDONÇA, L. Correlative multi-scale cryo-imaging unveils SARS-CoV-2 assembly and egress. **Nature Communications**, v. 12, n. 4629, p. 1-10, 2021.

MENG, B. *et al.* Recurrent emergence of SARS-CoV-2 spike deletion H69/V70 and its role in the Alpha variant B.1.1.7. **Cell reports**, v. 35, n. 13, p. 109292, 2021.

MEREDITH, L. W. *et al.* Rapid implementation of SARS-CoV-2 sequencing to investigate cases of health-care associated COVID-19: a prospective genomic surveillance study. **The Lancet infectious diseases**, v. 20, n. 11, p. 1263–1272, 2020.

MIAO, G. *et al.* ORF3a of the COVID-19 virus SARS-CoV-2 blocks HOPS complex-mediated assembly of the SNARE complex required for autolysosome formation. **Developmental Cell**, v. 56, n. 4, p. 427-442, 2021.

MINH, B. Q. *et al.* IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 5, p. 1530–1534, 2020.

MOSS, P. The T cell immune response against SARS-CoV-2. **Nature immunology**, v. 23, n. 2, p. 186–193, 2022.

NACHMIAS, V. *et al.* The first case of documented Covid-19 reinfection in Israel. **IDCases**, v. 22, p. 1-2, 2020.

NARANBHAI, V. *et al.* T cell reactivity to the SARS-CoV-2 Omicron variant is preserved in most but not all individuals. **Cell**, v. 185, n. 6, p. 1041-1051, 2022.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. **Clinical Spectrum of SARS-CoV-2 Infection**. Estados Unidos: National Institutes of Health, COVID-19 Treatment Guidelines, 2023. Disponível em: https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/overview/clinical-spectrum/. Acesso em: 19 abr. 2023.

NERPEL, A. *et al.* SARS-ANI: a global open access dataset of reported SARS-CoV-2 events in animals. **Scientific Data**, v. 9, n. 438, p. 1-13, 2022.

NGUYEN, T. T. L. *et al.* HAVoC, a bioinformatic pipeline for reference-based consensus assembly and lineage assignment for SARS-CoV-2 sequences. **BMC Bioinformatics**, v. 22, n. 373, p. 1-8, 2021.

NGUYEN, L. T. *et al.* IQ-TREE: A Fast and Effective Stochastic Algorithm for Estimating Maximum-Likelihood Phylogenies. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 268-274, 2015.

OBERMEYER, F. *et al.* Analysis of 6.4 million SARS-CoV-2 genomes identifies mutations associated with fitness. **Science**, v. 376, n. 6599, p. 1327–1332, 2022.

OGIMI, C. *et al.* What's New With the Old Coronaviruses? **Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society**, v. 9, n. 2, p. 210–217, 2020.

O'MAHONEY, L. L. *et al.* The prevalence and long-term health effects of Long Covid among hospitalised and non-hospitalised populations: A systematic review and meta-analysis. **EClinicalMedicine**, v. 55, p. 101762, 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **COVID-19 Public Health Emergency of International Concern (PHEIC) Global research and innovation forum**. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2020. Disponível em: https://www.who.int/publications/m/item/covid-19-public-health-emergency-of-international-concern-(pheic)-global-research-and-innovation-forum. Acesso em: 12 maio. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Weekly epidemiological update - 31 August 2020**. [s.l]: Organização Mundial da Saúde, 2020. Disponível em https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update---31-august-2020. Acesso em: 13 mar. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Pandemic fatigue – reinvigorating the public to prevent COVID-19: policy framework for supporting pandemic prevention and management.** Copenhague: WHO Regional Office for Europe, 2020.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Weekly epidemiological update on COVID-19 - 28 December 2021**. [s.l]: Organização Mundial da Saúde, 2020.

Disponível em: https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---28-december-2021. Acesso em: 13 mar. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Listings of WHO's response to COVID-19**. [s.l]: Organização Mundial da Saúde, 2021. Disponível em: https://www.who.int/news/item/29-06-2020-covidtimeline. Acesso em: 20 ago. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Weekly epidemiological update – 22 February 2022.** Disponível em: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports. Acesso em: 29 set. 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Tracking SARS-CoV-2 variants**. [s.l]: Organização Mundial da Saúde, 2023. Disponível em: https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants. Acesso em: 13 mar. 2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE. **Interim guidelines for detecting cases of reinfection by SARS-CoV-2**. Washington, D.C.: PAHO/WHO, 2020.

O'TOOLE, A. *et al.* Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. **Virus Evolution**, v. 7, n. 2, p. 1-9, 2021.

PALACIOS, R. *et al*. Double-Blind, Randomized, Placebo-Controlled Phase III Clinical Trial to Evaluate the Efficacy and Safety of treating Healthcare Professionals with the Adsorbed COVID-19 (Inactivated) Vaccine Manufactured by Sinovac - PROFISCOV: A structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial. **Trials**, v. 21, n. 1, p. 853, 2020.

PAPADOPOULOU, G. *et al*. Molecular and Clinical Prognostic Biomarkers of COVID-19 Severity and Persistence. **Pathogens**, v. 11, n. 3, 2022.

PARUMS, D. Editorial: Revised World Health Organization (WHO) Terminology for Variants of Concern and Variants of Interest of SARS-CoV-2. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 27, p. e933622, 21 jun. 2021.

PARUMS, D. V. Editorial: World Health Organization (WHO) Variants of Concern

Lineages Under Monitoring (VOC-LUM) in Response to the Global Spread of Lineages and Sublineages of Omicron, or B.1.1.529, SARS-CoV-2. **Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research**, v. 28, p. e937676, 2022.

PATIL, I. Visualizations with statistical details: The 'ggstatsplot' approach. **Journal of Open Source Software**, v. 6, n. 61, 3167, p. 1-5, 2021.

PEELING, R. W. *et al*. Syphilis. **Nature reviews. Disease primers**, v. 3, p. 17073, 2017.

PEKAR, J. E. The molecular epidemiology of multiple zoonotic origins of SARS-CoV-2. **Science**, v. 377, n. 6609, p. 960-966, 2022.

PÉREZ-THEN, E. *et al.* Neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 Delta and Omicron variants following heterologous CoronaVac plus BNT162b2 booster vaccination. **Nature Medicine**, v. 28, p. 481-485, 2022.

PERRA, N. Non-pharmaceutical interventions during the COVID-19 pandemic: A review. **Physics reports**, v. 913, p. 1–52, 2021.

PETHERICK, A. *et al*. A worldwide assessment of changes in adherence to COVID-19 protective behaviours and hypothesized pandemic fatigue. **Nature Human Behaviour**, v. 5, n. 9, p. 1145–1160, 2021.

PICCOLI, L. *et al.* Mapping Neutralizing and Immunodominant Sites on the SARS-CoV-2 Spike Receptor-Binding Domain by Structure-Guided High-Resolution Serology. **Cell**, v. 183, n. 4, p. 1024–1042.e21, 2020.

PILZ, S. *et al.* SARS-CoV-2 reinfections: Overview of efficacy and duration of natural and hybrid immunity. **Environmental research**, v. 209, p. 112911, 2022.

PLANAS, D. *et al.* Reduced sensitivity of SARS-CoV-2 variant Delta to antibody neutralization. **Nature**, v. 596, n. 7871, p. 276–280, 2021.

PLANTE, J. A. *et al.* Spike mutation D614G alters SARS-CoV-2 fitness. **Nature**, v. 592, n. 7852, p. 116–121, 2021.

POLINSKI, J. M. *et al*. Durability of the Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine in the Prevention of COVID-19 Infections and Hospitalizations in the US Before and During the Delta Variant Surge. **JAMA network open**, v. 5, n. 3, p. e222959, 2022.

QIU, X. *et al.* The role of asymptomatic and pre-symptomatic infection in SARS-CoV-2 transmission-a living systematic review. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 27, n. 4, p. 5110519, 2021.

QUICK, J. *et al.* Multiplex PCR method for MinION and Illumina sequencing of Zika and other virus genomes directly from clinical samples. **Nature Protocols**, v. 12, n. 6, p. 1261-1276, 2017.

QUICK, J. *et al.* Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. **Nature**, v. 530, p. 228-232, 2016.

RAHMAN, S. *et al.* COVID-19 reinfections among naturally infected and vaccinated individuals. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 1438, 2022.

RAMBAUT, A. *et al*. A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 lineages to assist genomic epidemiology. **Nature microbiology**, v. 5, n. 11, p. 1403–1407, 2020.

RAMOS-CASALS, M.; BRITO-ZERÓN, P.; MARIETTE, X. Systemic and organ-specific immune-related manifestations of COVID-19. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 17, n. 6, p. 315–332, 2021.

RANZANI, O. T. *et al.* Effectiveness of an inactivated Covid-19 vaccine with homologous and heterologous boosters against Omicron in Brazil. **Nature communications**, v. 13, n. 1, p. 5536, 2022.

RANZANI, O. T. *et al*. Characterisation of the first 250 000 hospital admissions for COVID-19 in Brazil: a retrospective analysis of nationwide data. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 9, n. 4, p. 407–418, 2021.

RAWAT, P. *et al*. Understanding the mutational frequency in SARS-CoV-2 proteome using structural features. **Computers in biology and medicine**, v. 147, p. 105708, 2022.

REN, X. *et al*. Reinfection in patients with COVID-19: a systematic review. **Global**

health research and policy, v. 7, n. 1, p. 12, 2022.

RIEDEL, S. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. **Proceedings** , v. 18, n. 1, p. 21–25, 2005.

ROCKX, B. *et al.* Comparative pathogenesis of COVID-19, MERS, and SARS in a nonhuman primate model. **Science**, v. 368, n. 6494, p. 1012–1015, 2020.

RODRÍGUEZ-GRANDE, C. *et al.* Early SARS-CoV-2 Reinfections Involving the Same or Different Genomic Lineages, Spain. **Emerging Infectious Diseases**, v. 29, n. 6, p. 1154-1161, 2023.

ROMERO-ALVAREZ, D.; ESCOBAR, L. E. Vegetation loss and the 2016 Oropouche fever outbreak in Peru. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 4, p. 292–298, 2017.

RUIZ-ARAVENA, M. *et al.* Ecology, evolution and spillover of coronaviruses from bats. **Nature reviews. Microbiology**, v. 20, n. 5, p. 299–314, 2022.

SABINO, E. C. *et al.* Resurgence of COVID-19 in Manaus, Brazil, despite high seroprevalence. **The Lancet**, v. 397, n. 10273, p. 452–455, 2021.

SADOFF, J. *et al.* Safety and Efficacy of Single-Dose Ad26.COV2.S Vaccine against Covid-19. **The New England journal of medicine**, v. 384, n. 23, p. 2187–2201, 2021.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado de Planejamento e Desenvolvimento Regional (SEADE). **SP CONTRA O NOVO CORONAVÍRUS. BOLETIM COMPLETO***.* São Paulo: Governo de São Paulo, 2023. Disponível em: https://www.seade.gov.br/coronavirus/. Acesso em: 27 de fevereiro de 2024.

SCHMIDT, O. W. *et al*. Rises in titers of antibody to human coronaviruses OC43 and 229E in Seattle families during 1975-1979. **American journal of epidemiology**, v. 123, n. 5, p. 862–868, 1986.

SEEßLE, J. *et al*. Persistent Symptoms in Adult Patients 1 Year After Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Prospective Cohort Study. **Clinical infectious diseases**, v. 74, n. 7, p. 1191–1198, 2022.

SECRETARIA MUNICIPAL DE SAÚDE DE SÃO PAULO. **Boletim Diário da COVID-19, Nº 66**. São Paulo: Secretaria Municipal da Saúde (SMS) de São Paulo (cidade), 2020.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DE SÃO PAULO. **Governo apresenta Plano São Paulo de reabertura da economia**. Disponível em: http://www.saude.sp.gov.br/ses/perfil/cidadao/homepage/destaques/governo-apresenta-plano-sao-paulo-de-reabertura-da-economia. Acesso em: 9 jun. 2023.

SELF, W. H. *et al.* Comparative Effectiveness of Moderna, Pfizer-BioNTech, and Janssen (Johnson & Johnson) Vaccines in Preventing COVID-19 Hospitalizations Among Adults Without Immunocompromising Conditions - United States, March-August 2021. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 70, n. 38, p. 1337–1343, 2021.

SELHORST, P. *et al.* Symptomatic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Reinfection of a Healthcare Worker in a Belgian Nosocomial Outbreak Despite Primary Neutralizing Antibody Response. **Clinical infectious diseases**, v. 73, n. 9, p. e2985-e2991, 2021.

SENDER, R. *et al*. The total number and mass of SARS-CoV-2 virions. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 25, p. 1-9, 2021.

SEVAJOL, M. *et al.* Insights into RNA synthesis, capping, and proofreading mechanisms of SARS-coronavirus. **Virus research**, v. 194, p. 90–99, 2014.

SEVILLANO, G. *et al*. Evidence of SARS-CoV-2 reinfection within the same clade in Ecuador: A case study. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 108, p. 53-56.

SHANG, J. *et al.* Structural basis of receptor recognitionby SARS- CoV-2. **Nature**, v. 581, p. 221–224, 2020.

SCHINDELIN, J. *et al.* Fiji - an Open Source platform for biological image analysis. **Nature methods**, v. 9, n. 7, p. 676–682, 2012.

SCHMIDT, N. *et al.* The SARS-CoV-2 RNA–protein interactome in infected human cells. **Nature Microbiology**, v. 6, p. 339-353, 2021.

SHU, Y.; MCCAULEY, J. GISAID: Global initiative on sharing all influenza data - from vision to reality. **Euro surveillance**, v. 22, n. 13, 2017.

SIMON-LORIERE, E.; HOLMES, E. C. Why do RNA viruses recombine? **Nature reviews. Microbiology**, v. 9, n. 8, p. 617–626, 2011.

SMITH, G. J. D. *et al*. Origins and evolutionary genomics of the 2009 swine-origin H1N1 influenza A epidemic. **Nature**, v. 459, p. 1122-1125, 2009.

SPARRER, M. N. *et al.* Role of Spillover and Spillback in SARS-CoV-2 Transmission and the Importance of One Health in Understanding the Dynamics of the COVID-19 Pandemic. **Jopurnal of Clinical Microbiology**, v. 61, n. 7, p. 1-15, 2023.

STERLIN, D. *et al.* IgA dominates the early neutralizing antibody response to SARS-CoV-2. **Science translational medicine**, v. 13, n. 577, 2021.

SUAH, J. L. *et al.* Waning COVID-19 Vaccine Effectiveness for BNT162b2 and CoronaVac in Malaysia: An Observational Study. **International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases**, v. 119, p. 69–76, 2022.

SUN, L. *et al.* Increased in vitro neutralizing activity of SARS-CoV-2 IgA1 dimers compared to monomers and IgG. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 118, n. 44, 2021.

TAGHIZADEH, P. *et al.* Study on SARS-CoV-2 strains in Iran reveals potential contribution of co-infection with and recombination between different strains to the emergence of new strains. **Virology**, v. 562, p. 63–73, 2021.

TAHA, Y. *et al.* Persistent SARS-CoV-2 infection in patients with secondary antibody deficiency: successful clearance following combination casirivimab and imdevimab (REGN-COV2) monoclonal antibody therapy. **Annals of clinical microbiology and antimicrobials**, v. 20, n. 1, p. 85, 2021.

TAMANDJOU TCHUEM, C. R. *et al*. Vaccine effectiveness and duration of protection

of COVID-19 mRNA vaccines against Delta and Omicron BA.1 symptomatic and severe COVID-19 outcomes in adults aged 50 years and over in France. **Vaccine**, v. 41, n. 13, p. 2280–2288, 2023.

TANRIOVER, M. D. *et al.* Efficacy and safety of an inactivated whole-virion SARS-CoV-2 vaccine (CoronaVac): interim results of a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial in Turkey. **The Lancet**, v. 398, n. 10296, p. 213–222, 2021.

TARASOV, A. *et al.* Sambamba: fast processing of NGS alignment formats. **Bioinformatics**, v. 31, n. 12, p. 2032-2034, 2015.

TEGALLY, H. *et al*. The evolving SARS-CoV-2 epidemic in Africa: Insights from rapidly expanding genomic surveillance. **Science**, v. 378, n. 6615, p. 1-15, 2022.

TEGALLY, H. *et al.* Detection of a SARS-CoV-2 variant of concern in South Africa. **Nature**, v. 592, n. 7854, p. 438–443, 2021.

TEMMAM, S. *et al.* Bat coronaviruses related to SARS-CoV-2 and infectious for human cells. **Nature**, v. 604, n. 7905, p. 330–336, 2022.

THAKUR, V. *et al.* Waves and variants of SARS-CoV-2: understanding the causes and effect of the COVID-19 catastrophe. **Infection**, v. 50, n. 2, p. 309-325, 2022.

THÈVES, C.; CRUBÉZY, E.; BIAGINI, P. History of Smallpox and Its Spread in Human Populations. **Microbiology spectrum**, v. 4, n. 4, 1-10, 2016.

THOMPSON, R. N. Improved inference of time-varying reproduction numbers during infectious disease outbreaks. **Epidemics**, v. 29, p. 1-11, 2019.

THOMPSON, M. G. *et al.* Effectiveness of a Third Dose of mRNA Vaccines Against COVID-19–Associated Emergency Department and Urgent Care Encounters and Hospitalizations Among Adults During Periods of Delta and Omicron Variant Predominance — VISION Network, 10 States, August 2021–January 2022. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 71, n. 4, p. 1-7, 2022.

TILLETT, R. L. *et al.* Genomic evidence for reinfection with SARS-CoV-2: a case study. **The Lancet infectious diseases**, v. 21, n. 1, p. 52–58, 2021.

TO, K. K.-W. *et al.* Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Re-infection by a Phylogenetically Distinct Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Strain Confirmed by Whole Genome Sequencing. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 73, n. 9, p. e2946–e2951, 2021.

TOLEDO-TEIXEIRA, D. A. *et al*. SARS-CoV-2 Nosocomial Outbreak in Campinas City, Brazil. **Archives of Clinical and Biomedical Research**. v. 7, n. 4, p. 449-458, 2023.

TOWNSEND, J. P. *et al*. The durability of immunity against reinfection by SARS-CoV-2: a comparative evolutionary study. **The Lancet. Microbe**, v. 2, n. 12, p. e666–e675, 2021.

TURAKHIA, Y. *et al.* Pandemic-scale phylogenomics reveals the SARS-CoV-2 recombination landscape. **Nature**, v. 609, n. 7929, p. 994–997, 2022.

TWU, W. I. *et al.* Contribution of autophagy machinery factors to HCV and SARS-CoV-2 replication organelle formation. **Cell Reports**, v. 37, n. 8, p. 1-15, 2021.

VAN ELSLANDE, J. *et al*. Symptomatic Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) Reinfection by a Phylogenetically Distinct Strain. **Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America**, v. 73, n. 2, p. 354–356, 2021.

VIANA, R. *et al.* Rapid epidemic expansion of the SARS-CoV-2 Omicron variant in southern Africa. **Nature**, v. 603, n. 7902, p. 679–686, 2022.

VIPER (Vaccines, Infectious disease Prevention, and Epidemiology Research) Group. **COVID19 Vaccine Tracker. Vaccines candidates in clinical trials**. Disponível em: https://covid19.trackvaccines.org/vaccines/#phase-3. Acesso em: 18 set. 2023.

V'KOVSKI, P. *et al.* Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, p. 155-170, 2021.

VOLOCH, C. M. *et al.* Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2 lineage from Rio de Janeiro, Brazil. **Journal of virology**, v. 95, n. 10, p. 1-5, 2021.

VOYSEY, M. *et al.* Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. **The Lancet**, v. 397, n. 10269, p. 99–111, 2021.

WACHARAPLUESADEE, S. *et al.* Evidence for SARS-CoV-2 related coronaviruses circulating in bats and pangolins in Southeast Asia. **Nature communications**, v. 12, n. 972, p. 1-9, 2021.

WALKER, S. A. *et al.* Tracking the Emergence of SARS-CoV-2 Alpha Variant in the United Kingdom. **The New England Journal of Medicine**, v. 385, p. 2582-2585, 2021.

WALLS, A. C. *et al.* Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 281-292, 2020.

WALSH, E. E. *et al.* Safety and Immunogenicity of Two RNA-Based Covid-19 Vaccine Candidates. **The New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 25, p. 2439–2450, 2020.

WANG, Y. *et al.* A comprehensive investigation of the mRNA and protein level of ACE2, the putative receptor of SARS- CoV-2, in human tissues and blood. **International Journal of Medical Sciences**, v. 17, n. 11, p.1522-1531, 2020.

WARDEH, M.; BAYLIS, M.; BLAGROVE, M. S. C. Predicting mammalian hosts in which novel coronaviruses can be generated. **Nature communications**, v. 12, n. 1, p. 780, 2021.

WEISBLUM, Y. *et al.* Escape from neutralizing antibodies by SARS-CoV-2 spike protein variants. **eLife**, v. 9, 2020.

WEI, W. E. *et al.* Presymptomatic Transmission of SARS-CoV-2 - Singapore, January 23-March 16, 2020. **MMWR. Morbidity and mortality weekly report**, v. 69, n. 14, p. 411–415, 2020.

WHERRY, E. J.; BAROUCH, D. H. T cell immunity to COVID-19 vaccines. **Science**,

v. 377, n. 6608, p. 821–822, 2022.

WIERSINGA, W. J. *et al.* Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. **JAMA: the journal of the American Medical Association**, v. 324, n. 8, p. 782–793, 2020.

WILLETT, B. J. *et al.* SARS-CoV-2 Omicron is an immune escape variant with an altered cell entry pathway. **Nature microbiology**, v. 7, n. 8, p. 1161–1179, 2022.

WILM, A. *et al.* LoFreq: a sequence-quality aware, ultra-sensitive variant caller for uncovering cell-population heterogeneity from high-throughput sequencing datasets. **Nucleic Acids Research**, v. 40, n. 22, p. 11189-111201, 2012.

WIT, E. *et al.* SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. **Nature reviews. Microbiology**, v. 14, n. 8, p. 523–534, 2016.

WOC-COLBURN, L.; GODINEZ, D. Lockdown as a public health measure. **COVID-19 Pandemic**. [s.l.] Elsevier, 2022. p. 133–136.

WÖLFEL, R. *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. **Nature**, v. 581, p. 465–469, 2020.

WOLFF, G. *et al.* Double-Membrane Vesicles as Platforms for Viral Replication. **Trends in Microbiology**, v. 28, n. 12, p. 1022-1033, 2020.

WORBY, C. J.; CHANG, H.-H. Face mask use in the general population and optimal resource allocation during the COVID-19 pandemic. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1–9, 2020.

WOROBEY, M. *et al.* The Huanan Seafood Wholesale Market in Wuhan was the early epicenter of the COVID-19 pandemic. **Science**, v. 377, n. 6609, p. 951–959, 2022.

WRAPP, D. *et al.* Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, v. 367, n. 6483, p. 1260-1263, 2020.

WU, C. *et al.* Structure genomics of SARS-CoV-2 and its Omicron variant: drug design templates for COVID-19. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 43, p. 3021-3033,

2022.

WU, F. *et al.* A new coronavirus associated with human respiratory disease in China. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 265–269, 2020.

XIAO, Animal sales from Wuhan wet markets immediately prior to the COVID-19 pandemic. **Scientific Reports**, v. 11, n. 11898, p. 1-7, 2021.

YANES-LANE, M. *et al*. Proportion of asymptomatic infection among COVID-19 positive persons and their transmission potential: A systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 15, n. 11, p. 1-21, 2020.

YANG, B. *et al.* Clinical and molecular characteristics of COVID-19 patients with persistent SARS-CoV-2 infection. **Nature communications**, v. 12, n. 3501, p. 1-13, 2021.

YANG, Y.; DU, L. SARS-CoV-2 spike protein: a key target for eliciting persistent neutralizing antibodies. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 6, n. 95, p. 1-3, 2021.

YU, F.; TAI, W.; CHENG, G. T-cell immunity: a barrier to Omicron immune evasion. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 7, n. 297, p. 1-3, 2022.

ZAHRADNÍK, J. *et al.* SARS-CoV-2 variant prediction and antiviral drug design are enabled by RBD in vitro evolution. **Nature microbiology**, v. 6, n. 9, p. 1188–1198, 2021.

ZAMBALDE, E. P. Increased mTOR Signaling and Impaired Autophagic Flux Are Hallmarks of SARS-CoV-2 Infection. **Curr. Issues Mol. Biol**, v. 45, p. 327-336.

ZHABOKRITSKY, A. *et al*. Persistent infection with severe acute respiratory coronavirus virus 2 (SARS-CoV-2) in a patient with untreated human immunodeficiency virus (HIV). **Infection control and hospital epidemiology: the official journal of the Society of Hospital Epidemiologists of America**, v. 44, n. 2, p. 350–351, 2023.

ZHANG, Z. *et al.* Humoral and cellular immune memory to four COVID-19 vaccines. **Cell**, v. 185, n. 14, p. 2434–2451.e17, 2022.

ZHANG, Y. *et al.* The SARS-CoV-2 protein ORF3a inhibits fusion of autophagosomes with lysosomes. **Cell Discovery**, v. 7, n. 31, p. 1-12, 2021.

ZHOU, P. *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020.

8 COLABORAÇÕES DURANTE O PERÍODO

- **2024**

DE SOUZA, W. M. Pathophysiology of chikungunya virus infection associated with fatal outcomes. **Cell Host and Microbe**, v. 32, p. 1-17, 2024.

- **2023**

BRUNETTI, N. *et al.* SARS-CoV-2 uses CD4 to infect T helper lymphocytes. **eLife**, v.12, p.1-26, 2023.

CLARO, I. M. *et al.* Rapid viral metagenomics using SMART-9N amplification and nanopore sequencing [version 2; peer review: 2 approved]. **Wellcome Open Res**, v.6, n. 241, p. 1-15, 2023.

DE SOUZA, W. *et al.* Spatiotemporal dynamics and recurrence of chikungunya virus in Brazil: an epidemiological study. **The Lancet Microbe**, v.4, p.e319 - e329, 2023.

FILIPPI, M. *et al.* Prolonged SARS-CoV-2 Infection and Intra-Patient Viral Evolution in an Immunodeficient Child. **Pediatric Infectious Disease Journal**. v.42, p.212-217, 2023.

TOLEDO-TEIXEIRA, D. A. *et al.* SARS-CoV-2 Nosocomial Outbreak in Campinas City. **Brazil. Arch Clin Biomed Res**, v.7, p. 449-458, 2023.

ZAMBALDE, E. P. Increased mTOR Signaling and Impaired Autophagic Flux Are

Hallmarks of SARS-CoV-2 Infection. **Curr. Issues Mol. Biol**, v. 45, p. 327-336, 2023.

- **2022**

BORIN, A. *et al.* Identification and characterization of the anti-SARS-CoV-2 activity of cationic amphiphilic steroidal compounds. **Virulence**, v.13, p.1031 - 1048, 2022.

CRUNFLI, F. *et al.* Morphological, cellular, and molecular basis of brain infection in COVID-19 patients. **Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America**, v. 119, p. 1 - 12, 2022.

SACCON, T. D. *et al.* SARS-CoV-2 infects adipose tissue in a fat depot- and viral lineage-dependent manner. **Nature Communications**, v. 13, p. 1-15, 2022.

ZAMBALDE, E. P. *et al.* Characterization of the Interaction Between SARS-CoV-2 Membrane Protein (M) and Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA) as a Potential Therapeutic Target**. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v.12, p.1 - 13, 2022.

- **2021**

SILVA-FILHO, J. L. *et al.* Gas6 drives Zika virus-induced neurological complications in humans and congenital syndrome in immunocompetent mice. **Brain Behavior and Immunity**, v. 97, p. 260 - 274, 2021. DOI: 10.1016/j.bbi.2021.08.008.

- **2020**

CANDIDO, D. S. *et al.* Evolution and epidemic spread of SARS-CoV-2 in Brazil. **Science**, v.369, p. 1255–1260, 2020.

NOBREGA, G. M. *et al.* TAM and TIM receptors mRNA expression in Zika virus infected placentas. **Placenta**, v. 101, p.204 - 207, 2020.

9 OUTRAS PRODUÇÕES

- **2023**

BONORA JUNIOR, M.; AMORIM, M. R.; BORIN, A. P. O que é a Dengue? Home page: https://www.blogs.unicamp.br/emrc/2023/06/06/o-que-e-a-dengue/. 2023.

BONORA JUNIOR, M.; AMORIM, M. R.; BORIN, A. P. Dengue: como é sua transmissão e sintomas? Home page: https://www.blogs.unicamp.br/emrc/2023/06/06/transmissao-e-sintomas-da-dengue/. 2023.

BONORA JUNIOR, M.; AMORIM, M. R.; BORIN, A. P. Se temos vacina contra dengue, por que não nos vacinamos? Home page: https://www.blogs.unicamp.br/emrc/2023/06/06/se-temos-vacina-contra-dengue-por-que-nao-nos-vacinamos/. 2023.

Projeto de extensão: Campanha de vacinação contra o HPV no TikTok, com o Instituto Todos Pelas Vacinas, em parceria com o Blogs de Ciências da Unicamp.

- **2022**

AMORIM, MARIENE R.; BONORA JUNIOR, M.; ARNT, A. M. *A estrutura do Monkeypox vírus*. Home page: https://www.blogs.unicamp.br/emrc/2022/07/24/a-estrutura-do-monkeypox-virus. 2022.

ARNT, A. M.; AMORIM, M. R.; BONORA JUNIOR, M. *Como acontece uma Emergência de Saúde Pública de Preocupação Internacional (PHEIC) e qual a relação com a varíola símia?* Home page: https://www.blogs.unicamp.br/emrc/2022/07/23/pheic-e-a-variola-simia/. 2022.

AMORIM, M. R.; ARNT, A. M.; MORI, MARCELO A.; FARIAS, ALESSANDRO S; PROENÇA-MODENA, JOSE LUIZ. *Anticorpos neutralizantes e a variante*

P.1 Gamma. Home page: https://www.blogs.unicamp.br/covid-19/anticorpos-neutralizantes-e-a-variante-p-1-gamma/. 2022.

BONORA JUNIOR, M.; AMORIM, M.; ARNT, Ana de Medeiros. Glossário de Termos-Chave. *In*: Arnt, Ana de Medeiros; Costa, Carolina; Erica Mariosa Moreira Carneiro, Bonora Junior, Maurílio; Nichi, Jaqueline. (Org.). **Linha de fundo: um giro de divulgação científica sobre a COVID-19 no blogs Unicamp**. 1ed.Campinas: Blogs de Ciências Unicamp, 2021, v. 1, p. 304-307.

- **2021**

AMORIM, M. R.; PROENCA-MODENA, J.L.; BONORA, Maurílio Jr. *As vacinas Astrazeneca e Coronavac nos protegem contra a variante Alfa? [Spoiler: sim]*. https://www.blogs.unicamp.br/covid-19/as-vacinas-astrazeneca-e-coronavac-nos-protegem-contra-a-variante-alfa-spoiler-sim/. 2021.

AMORIM, MARIENE R*. Diversidade viral e surgimento de novas variantes do SARS-CoV-2*. Home page: https://www.blogs.unicamp.br/covid-19/diversidade-viral-e-surgimento-de-novas-variantes-do-sars-cov-2/. 2021.

10 ANEXOS

Metadados

A planilha a seguir apresenta os metadados referente às amostras sequenciadas, coletados durante o período de realização da presente tese: Identificação das amostras (ID), sexo (Sex) - feminino (F) ou masculino (M), idade (Age), distrito de saúde de Campinas (DRS_campi), data da coleta no formato yyyy-mm-dd (Colection_date), hospital de oriegm da amostra (Hospital_origin), tipo de amostra (Sample) - lavado broncoalveolar (BAL) ou *swab* nasofaríngeo (NFS) ou aspirado traqueal (TA), hospitalização (Hospitalization), gravidade da doença (Disease_severity), *status* do paciente (Patient_status), data de início dos sintomas no formato yyyy-mm-dd (Onset_symptoms), CT obtido com *primers* Saberco (CT_Saberco), CT obtido comkit GeneFinder (CT_E, CT_RdRp e CT_N), método de sequenciamento (Seq_method), cobertura do genoma obtida (Coverage), classificação da linhagem pelo Pangolin (Pangolin), classificação da OMS (WHO), e código da sequência depositada no GISAID (ID_GISAID).

ID_sequencing	Sex	Age	Municipality	DRS_campi	Colection_date	Hospital_origin	Sample	Hospitalization	Disease_severity	Patient_status	onset_symptoms	CT_Sarbeco	CT_E	CT_N	CT_RdRp	Seq_method	Coverage	Pangolin	WHO	ID_GISAID
CAMPI2	M	78	AguasdeLindoia		2020-04-01	HC	BAL	Yes	Severe	Deceased	2020-03-20	19.23				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476161
CAMPI3	F	27	Campinas	SW	2020-04-01	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-03-28	20.26				MinION_V3	96.94	B.1	non-VOC	EPI_ISL_476164
CAMPI5	M	52	Campinas	E	2020-04-02	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-03-29	25.10				MinION_V3	96.68	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476168
CAMPI7	F	28	Campinas	SW	2020-04-03	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-03-31	24.82				MinION_V3	91.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476169
CAMPI8	F	30	Campinas	E	2020-04-03	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-03-31	17.20				MinION_V3	96.17	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476170
CAMPI12	F	59	Paulinia		2020-04-07	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-03-27	26.95				MinION_V3	80.61	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476154
CAMPI10	F	36	Campinas	S	2020-04-06	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-06	15.46				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476152
CAMPI11	F	38	Campinas	E	2020-04-07	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-04	25.46				MinION_V3	85.09	B.1	non-VOC	EPI_ISL_476153
CAMPI13	F	49	Sumare		2020-04-07	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-03	16.12				MinION_V3	97.95	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476155
CAMPI15	M	28	Paulinia		2020-04-08	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-03	17.20				MinION_V3	96.97	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476157
CAMPI14	F	49	Campinas	E	2020-04-07	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-05	17.97				MinION_V3	96.97	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476156
CAMPI18	F	57	Sumare		2020-04-09	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-07	27.27				MinION_V3	95.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476159
CAMPI16	F	28	Campinas	E	2020-04-08	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-06	18.40				MinION_V3	97.95	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476158
CAMPI19	F	31	NovaOdessa		2020-04-09	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-03	18.10				MinION_V3	97.95	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476160
CAMPI20	F	39	Sumare		2020-04-09	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-05	15.73				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476162
CAMPI31	F	53	Sumare		2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-08	26.90				MinION_V3	95.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476165
CAMPI32	F	34	Sumare		2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-09	30.72				MinION_V3	81.33	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476166
CAMPI29	M	47	Campinas	SW	2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-10	18.20				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476163
CAMPI36	F	40	Hortolandia		2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	11.79				MinION_V3	97.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476167
CAMPI38	F	29	Sumare		2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-08	25.30				MinION_V3	96.34	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476338
CAMPI26I	F	35	Campinas	E	2020-04-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-05	35.24				MinION_V3	99.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_1511641
CAMPI52	F	59	Sumare		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	16.90				MinION_V3	91.85	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476340
CAMPI30	F	41	Campinas	N	2020-04-14	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-05	27.07				MinION_V3	89.69	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476337
CAMPI53	F	31	Hortolandia		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	14.20				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476341
CAMPI61	M	46	Paulinia		2020-04-18	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	16.70				MinION_V3	82.25	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476342
CAMPI45	F	53	Campinas	unknown	2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-12	13.30				MinION_V3	98.11	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476339
CAMPI63	F	47	Hortolandia		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-14	16.70				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476343
CAMPI68	F	50	Sumare		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-05-15	26.90				MinION_V3	96.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476344
CAMPI70	F	32	Hortolandia		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-18	18.50				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476345
CAMPI93	F	53	Sumare		2020-04-25	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-19	17.90				MinION_V3	96.35	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476349
CAMPI75	F	34	Campinas	E	2020-04-23	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-17	21.90				MinION_V3	95.37	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476346
CAMPI78	M	42	Campinas	E	2020-04-23	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-19	16.40				MinION_V3	95.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476347
CAMPI86	F	54	Campinas	S	2020-04-23	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-04-17	26.90				MinION_V3	85.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476348
CAMPI4	F	29	Campinas	E	2020-04-02	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-03-30	18.87				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476391
CAMPI17	F	35	Campinas	E	2020-04-09	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-02	27.12				MinION_V3	92.92	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476387
CAMPI23	M	43	Campinas	unknown	2020-04-09	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-01	19.48				MinION_V3	96.58	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476388
CAMPI33	F	71	Campinas	N	2020-04-14	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-04-04	24.70				MinION_V3	94.78	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476390
CAMPI41	M	41	Campinas	S	2020-04-15	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-09	28.30				MinION_V3	83.77	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476392
CAMPI24	F	44	Paulinia		2020-04-09	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-06	16.84				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476389
CAMPI43	M	55	Sumare		2020-04-16	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-09	25.50				MinION_V3	89.26	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476393
CAMPI44	F	35	Campinas	SW	2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	19.60				MinION_V3	96.57	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476394
CAMPI9	F	43	Sumare		2020-04-03	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-03-26	28.59				MinION_V3	87.41	B.1	non-VOC	EPI_ISL_476402
CAMPI51	F	55	ntaBarbaraDoeste		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-12	15.20				MinION_V3	98.67	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476395
CAMPI58	F	33	Sumare		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-12	21.10				MinION_V3	97.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476396
CAMPI65	F	38	Campinas	N	2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-14	15.90				MinION_V3	98.67	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476398
CAMPI62	F	53	Hortolandia		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-12	18.60				MinION_V3	96.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476397
CAMPI66	F	39	Sumare		2020-04-18	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-14	23.80				MinION_V3	97.35	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476399
CAMPI69	F	34	Hortolandia		2020-04-20	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-07	35.40				MinION_V3	97.37	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476400
CAMPI72	M	23	Sumare		2020-04-20	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-04	30.30				MinION_V3	80.39	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476401
CAMPI102	M	31	Jundiai		2020-04-25	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-21	19.20				MinION_V3	95.58	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476408
CAMPI103	F	55	Campinas	N	2020-04-25	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-21	28.80				MinION_V3	82.92	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476409
CAMPI105	M	22	Hortolandia		2020-04-28	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-23	24.50				MinION_V3	92.69	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476410
CAMPI106	F	55	ntaBarbaraDoeste		2020-04-28	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-04-12	28.50				MinION_V3	96.21	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476411
CAMPI114	M	32	Campinas	E	2020-04-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-24	21.00				MinION_V3	97.24	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476412
CAMPI117	F	96	Artur Nogueira		2020-04-30	HC	NFS	Yes	Severe	Released	unknown	20.30				MinION_V3	97.38	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476413
CAMPI119	F	30	Campinas	S	2020-04-30	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-04-21	19.80				MinION_V3	97.37	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476414
CAMPI123	M	39	Jundiai		2020-04-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-26	24.60				MinION_V3	96.49	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476415
CAMPI77	F	57	Sumare		2020-04-23	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-07	29.50				MinION_V3	90.51	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476416
CAMPI83	M	84	Campinas	SW	2020-04-23	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-03	25.50				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476417
CAMPI89	F	39	Sumare		2020-04-25	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-17	27.10				MinION_V3	96.71	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476418
CAMPI91	F	43	Sumare		2020-04-23	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-15	24.00				MinION_V3	97.95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476419
CAMPI92	F	40	Hortolandia		2020-04-25	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-11	30.00				MinION_V3	89.64	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476420
CAMPI94	F	63	Sumare		2020-04-25	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-03	24.60				MinION_V3	78.08	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476421
CAMPI95	M	50	Campinas	S	2020-04-25	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-04-18	28.40				MinION_V3	96.21	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476422
CAMPI97	F	39	Sumare		2020-04-25	HES	NFS	No	Mild	Released	2020-04-22	23.40				MinION_V3	94.55	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_476423
CAMPI98	M	52	Hortolandia		2020-04-25	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-04-08	17.20				MinION_V3	93.99	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_476424
CAMPI99	M	56	Sumare		2020-04-25	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-04-13	25.30				MinION_V3	92.93	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_476425
CAMPI122	M	32	Campinas	E	2020-05-06	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-05-02	19.60				MinION_V3	89.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712906
AMPI123-L1	F	44	Monte Mor		2020-05-07	HC	NFS	No	Mild	Released	2020-05-03	19.60				MinION_V3	91.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712907
CAMPI214	F	32	Campinas	E	2020-05-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-04	23.70				MinION_V3	92.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712943
CAMPI403	M	57	Campinas	E	2020-05-08	HC	NFA	Yes	Moderate	Released	2020-04-25	23.53				MinION_V3	91.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819411
CAMPI127	F	39	Campinas	S	2020-05-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-08	21.50				MinION_V3	97.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712908
CAMPI384	M	34	Campinas	E	2020-05-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-07	18.45				MinION_V3	89.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819397
CAMPI402	F	38	Campinas	S	2020-05-11	HC	NFA	Yes	Moderate	Released	2020-04-30	28.10				MinION_V3	87.9	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819410
CAMPI405	F	57	Campinas	S	2020-05-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-09	17.53				MinION_V3	95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819413
CAMPI128	F	33	Campinas	S	2020-05-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-08	19.37				MinION_V3	93.9	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_12712909
CAMPI377	M	47	Campinas	E	2020-05-14	HC	TA	Yes	Severe	Released	2020-05-08	23.16				MinION_V3	94.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819392
CAMPI378	M	28	Artur Nogueira		2020-05-14	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-08	19.47				MinION_V3	90.2	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819393
CAMPI399	F	27	Campinas	E	2020-05-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-11	18.53				MinION_V3	80.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819407
CAMPI129	F	30	Campinas	NW	2020-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-12	25.95				MinION_V3	92.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712910
CAMPI398	F	23	Campinas	N	2020-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-18	20.17				MinION_V3	98.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819406
CAMPI130	M	53	Campinas	S	2020-05-19	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-08	23.55				MinION_V3	94.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712911
CAMPI137	F	37	Campinas	NW	2020-05-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-14	16.14				MinION_V3	90.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712917
CAMPI159	M	45	Monte Mor		2020-05-19	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-16	15.90				MinION_V3	94.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712933
CAMPI132	F	45	Campinas	S	2020-05-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-16	22.69				MinION_V3	91.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712913
CAMPI131	M	57	Campinas	S	2020-05-20	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-12	24.50				MinION_V3	93.7	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_12712912
CAMPI153	M	51	Itapira		2020-05-20	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-05-17	17.61				MinION_V3	86.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712930
CAMPI312	F	27	Campinas	NW	2020-05-20	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-16	22.79				MinION_V3	79.4	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_13046389
CAMPI217	M	57	Campinas	N	2020-05-21	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-05-18	19.48				MinION_V3	89.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712946
CAMPI138	M	50	Campinas	E	2020-05-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-19	23.54				MinION_V3	91.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712918
CAMPI160	F	20	Campinas	S	2020-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-21	17.08				MinION_V3	76	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819355
CAMPI133	M	49	Campinas	N	2020-05-25	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-05-12	24.53				MinION_V3	95.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712914
CAMPI139	F	47	Holambra		2020-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-21	20.93				MinION_V3	93.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712919
CAMPI140	F	43	Cosmópolis		2020-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-21	28.51				MinION_V3	93.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712920
CAMPI407	F	48	Campinas	N	2020-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-21	16.26				MinION_V3	98.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819415
CAMPI392	F	37	Campinas	E	2020-05-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-20	19.56				MinION_V3	97.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819401
CAMPI141	F	40	Campinas	S	2020-05-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-24	22.63				MinION_V3	87.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712921
CAMPI146	F	50	Campinas	E	2020-05-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-26	18.09				MinION_V3	97.4	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_12712926
CAMPI145	F	42	Americana		2020-05-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-26	25.64				MinION_V3	87.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712925
CAMPI175	M	40	Valinhos		2020-05-29	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-24	26.12				MinION_V3	88.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712941
CAMPI142	F	39	Campinas	SW	2020-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-27	25.62				MinION_V3	96.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712922
CAMPI143	F	36	Hortolandia		2020-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-28	25.92				MinION_V3	93.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712923
CAMPI144	F	51	Campinas	E	2020-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-30	19.81				MinION_V3	97.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712924
CAMPI147	F	61	Campinas	N	2020-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-27	28.46				MinION_V3	98	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712927
CAMPI148	F	38	Sumare		2020-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-28	21.14				MinION_V3	97.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712928
CAMPI157	F	61	Campinas	SW	2020-06-01	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-05-30	13.57				MinION_V3	87.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712931
CAMPI134	F	42	Campinas	SW	2020-06-02	CECOM	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-30	29.51				MinION_V3	93.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712915
CAMPI149	F	48	Campinas	SW	2020-06-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-31	28.70				MinION_V3	82.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712929

CAMPI158	M	36	Campinas	S	2020-06-03	HC	TA	Yes	Severe	Deceased	2020-06-02	16.40				MinION_V3	75	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712932
CAMPI216	F	38	Americana		2020-06-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-03	22.76				MinION_V3	86.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712945
CAMPI136	F	38	Campinas	SW	2020-06-04	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-06-01	20.35				MinION_V3	96.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712916
CAMPI382	F	53	Campinas	NW	2020-06-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-01	21.72				MinION_V3	92.5	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819396
CAMPI396	F	35	Campinas	E	2020-06-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-31	20.83				MinION_V3	97.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819404
CAMPI165	F	50	Campinas	E	2020-06-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-05-29	21.84				MinION_V3	74.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712936
CAMPI306	F	70	Hortolandia		2020-06-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-02	23.39				MinION_V3	95.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712953
CAMPI313	F	28	Campinas	E	2020-06-05	CAISM	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-31	19.54				MinION_V3	97	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_13046390
CAMPI395	F	77	Campinas	E	2020-06-07	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-06-07	20.56				MinION_V3	97.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819403
CAMPI293	M	55	Hortolandia		2020-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-05	20.11				MinION_V3	97.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712948
CAMPI294	F	39	Hortolandia		2020-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-04	23.53				MinION_V3	95.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712949
CAMPI305	F	42	Campinas	N	2020-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-04	23.07				MinION_V3	95.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712952
CAMPI401	F	43	Campinas	S	2020-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-03	22.73				MinION_V3	91.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819409
CAMPI388	M	46	Campinas	SW	2020-06-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-06	16.45				MinION_V3	97.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819399
CAMPI400	F	65	Campinas	SW	2020-06-09	_surveillar	NFS	Yes	Severe	Deceased	unknown	17.52				MinION_V3	92.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819408
CAMPI307	F	27	Americana		2020-06-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-07		25.88	26.96	27.00	MinION_V3	89.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712954
CAMPI220I	F	35	Campinas	E	2020-06-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-05		31.14	31.31	32.58	MinION_V3	97	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_1511644
CAMPI162	F	39	Valinhos		2020-06-11	_surveillar	NFS	Yes	Severe	Released	2020-05-24		19.58	20.74	21.56	MinION_V3	75.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712934
CAMPI308	M	54	ıragança Paulista		2020-06-11	HC	NFS	Yes	Severe	Released	unknown		17.22	19.09	20.68	MinION_V3	97	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712955
CAMPI163	M	49	Monte Mor		2020-06-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-08		22.53	23.79	24.17	MinION_V3	74.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712935
CAMPI295	M	26	Campinas	N	2020-06-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-08		19.24	20.19	20.67	MinION_V3	97.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712950
CAMPI304	M	62	Campinas	N	2020-06-12	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-06-11		23.83	24.88	27.40	MinION_V3	97.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712951
CAMPI381	F	43	Campinas	NW	2020-06-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-16		22.00	22.11	23.90	MinION_V3	71.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819395
CAMPI173	F	37	Mogi Mirim		2020-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-11		22.33	23.53	23.04	MinION_V3	93	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712940
CAMPI178	F	27	Campinas	SW	2020-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-14		27.65	28.96	29.64	MinION_V3	84.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712942
CAMPI218	F	45	Limeira		2020-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-09		20.07	20.94	21.20	MinION_V3	98	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712947
CAMPI356	F	30	Campinas	N	2020-06-15	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-10		26.05	26.43	27.73	MinION_V3	94.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046391
CAMPI170	M	46	Campinas	N	2020-06-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-12		26.29	27.38	28.06	MinION_V3	73.1	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_12712938
CAMPI169	F	44	Campinas	S	2020-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-17		20.81	22.30	22.95	MinION_V3	97.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712937
CAMPI215	F	45	Hortolandia		2020-06-17	_surveillar	NFS	Yes	Mild	Released	Asymptomatic		23.96	23.51	26.40	MinION_V3	98.8	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_12712944
CAMPI394	F	49	Campinas	SW	2020-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-14		20.58	22.28	21.32	MinION_V3	97.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819402
CAMPI397	F	58	Campinas	N	2020-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-15		17.47	18.35	19.72	MinION_V3	70.9	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819405
CAMPI171	M	25	Campinas	E	2020-06-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-14					MinION_V3	85.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_12712939
CAMPI386	M	46	Campinas	S	2020-06-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-12		19.65	20.04	18.61	MinION_V3	74.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819398
CAMPI406	F	46	Campinas	E	2020-06-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-14		21.42	22.14	23.70	MinION_V3	99.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819414
CAMPI380	F	44	Campinas	SW	2020-06-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-17		21.12	21.94	23.17	MinION_V3	81.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819394
CAMPI389	F	38	Campinas	SW	2020-06-19	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-06-01		24.49	24.87	26.02	MinION_V3	82.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819400
CAMPI358	F	27	Campinas	S	2020-06-20	CAISM	NFS	No	Severe	unknown	2020-06-19		21.28	21.50	23.22	MinION_V3	98.4	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_13046393
CAMPI359	F	27	Campinas	N	2020-06-20	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-20		21.63	22.01	23.84	MinION_V3	94.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046394
CAMPI314	F	38	Campinas	N	2020-06-22	CAISM	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-06-21		19.97	18.40	20.79	MinION_V3	93.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046395
CAMPI451	M	59	Campinas	S	2020-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-16		19.60	19.60	20.31	MinION_V3	98.67	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819453
CAMPI716	F	34	Campinas	N	2020-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		22.97	23.83	25.37	MinION_V4.1	76.94	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819684
CAMPI452	M	55	Campinas	SW	2020-06-23	HC	NFS	Yes	Mild	Released	2020-06-15		21.74	21.74	21.98	MinION_V3	95.68	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819454
CAMPI453	F	56	Campinas	N	2020-06-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-20		26.48	26.48	27.70	MinION_V3	83.43	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819455
CAMPI450	F	35	Campinas	SW	2020-06-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-20		25.75	25.75	26.20	MinION_V3	71.06	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819452
CAMPI454	M	29	Paulinia		2020-06-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-20		20.66	20.66	21.11	MinION_V3	87.51	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819456
CAMPI172	M	46	Campinas	E	2020-06-24	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-06-18		26.67	27.40	28.44	MinION_V3	89.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819356
CAMPI361	F	37	ntaBarbaraDoeste		2020-06-26	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-25		22.37	23.21	24.76	MinION_V3	98.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046398
CAMPI456	F	39	Campinas	NW	2020-06-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-22		26.70	26.00	27.00	MinION_V3	87.84	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819457
CAMPI360	F	25	Campinas	N	2020-06-27	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-23		25.31	26.30	27.33	MinION_V3	97.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046396
CAMPI357	F	38	Campinas	N	2020-06-28	CAISM	NFS	Yes	Severe	unknown	2020-06-15		22.64	23.46	24.89	MinION_V3	97.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046392
CAMPI459	M	54	Campinas	N	2020-06-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-26		18.07	19.23	19.62	MinION_V3	97.95	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819460
CAMPI457	M	52	Campinas	NW	2020-06-29	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-06-26		18.93	19.92	21.10	MinION_V3	99.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819458
CAMPI458	F	49	Campinas	SW	2020-06-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-22		23.05	23.60	24.43	MinION_V3	98.07	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819459
CAMPI460	F	50	Campinas	NW	2020-06-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-26		19.41	19.85	21.58	MinION_V3	87.36	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819461
CAMPI759	M	45	Campinas	N	2020-06-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-24		20.40	21.32	21.93	MinION_V4.1	83.34	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819708
CAMPI315	F	22	Campinas	E	2020-06-30	CAISM	NFS	Yes	\symptomatic	Released	Asymptomatic		17.98	18.87	20.11	MinION_V3	74.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046397
CAMPI760	F	36	Campinas	N	2020-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-25		23.68	24.82	24.25	MinION_V4.1	71.28	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819709
CAMPI761	M	59	Campinas	E	2020-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-21		27.24	23.85	30.94	MinION_V4.1	91.57	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819710
CAMPI435	F	78	Campinas	S	2020-07-01	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-06-23		21.27	22.60	23.86	MinION_V3	93	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819437
CAMPI446	M	62	Campinas	E	2020-07-01	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-06-25		26.12	27.44	28.23	MinION_V3	84.6	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819448
CAMPI461	F	94	Campinas	N	2020-07-01	HC	NFS	Yes	Mild	Released	unknown		18.40	20.00	20.44	MinION_V3	99.44	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819462
CAMPI362	F	29	Cerquilho		2020-07-03	CAISM	NFS	Yes	Mild	Released	2020-06-29		23.50	24.96	26.32	MinION_V3	96.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046399
CAMPI462	F	42	Campinas	S	2020-07-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-29		21.77	22.85	23.87	MinION_V3	76.94	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819463
CAMPI363	F	20	Campinas	NW	2020-07-04	CAISM	NFS	Yes	Mild	Released	2020-07-04		23.12	24.47	25.50	MinION_V3	98.7	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_13046400
CAMPI463	F	38	Campinas	SW	2020-07-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-29		16.48	21.78	19.25	MinION_V3	95.27	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819464
CAMPI428	F	45	Campinas	S	2020-07-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-03		16.34	16.42	18.20	MinION_V3	98.7	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819430
CAMPI436	M	73	Campinas	SW	2020-07-06	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-06-30		21.91	22.72	23.35	MinION_V3	95	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819438
CAMPI464	M	22	Campinas	N	2020-07-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-02		17.53	18.27	19.85	MinION_V3	99.6	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819465
CAMPI443	M	30	Campinas	E	2020-07-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-04		18.13	23.03	19.76	MinION_V3	94.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819445
CAMPI465	M	44	Campinas	NW	2020-07-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-05		18.75	22.92	20.52	MinION_V3	93.28	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819466
CAMPI469	M	54	Campinas	SW	2020-07-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-09		26.95	28.60	28.54	MinION_V3	93.67	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819470
CAMPI468	M	26	Campinas	N	2020-07-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-07		19.00	19.32	20.94	MinION_V3	99.6	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819469
CAMPI467	F	37	Campinas	S	2020-07-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-05		19.30	20.70	21.50	MinION_V3	95.92	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819468
CAMPI470	F	53	Campinas	SW	2020-07-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-04		18.35	19.81	20.68	MinION_V3	99.53	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819471
CAMPI466	M	69	Campinas	E	2020-07-09	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-07-01		25.70	26.70	28.90	MinION_V3	86.96	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819467
CAMPI364	F	28	Campinas	N	2020-07-12	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-08		25.00	27.00	28.00	MinION_V3	96.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046401
CAMPI434	F	40	Campinas	N	2020-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-08		19.80	24.91	22.51	MinION_V3	93.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819436
CAMPI437	M	57	Campinas	SW	2020-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-10		21.61	22.77	23.31	MinION_V3	95.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819439
CAMPI471	M	35	Campinas	E	2020-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-09		18.00	19.00	20.00	MinION_V3	93.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819472
CAMPI332	F	28	Campinas	S	2020-07-14	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-11		21.24	21.77	23.43	MinION_V3	97.7	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046402
CAMPI762	F	27	Campinas	N	2020-07-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-12		19.91	21.41	19.50	MinION_V4.1	98.07	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819711
CAMPI429	M	43	Campinas	NW	2020-07-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-13		21.55	26.14	23.57	MinION_V3	89.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819431
CAMPI430	F	47	Campinas	NW	2020-07-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-14		24.00	24.00	25.00	MinION_V3	98.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819432
CAMPI431	F	25	Campinas	S	2020-07-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-16		18.11	19.09	19.35	MinION_V3	99.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819433
CAMPI432	M	33	Campinas	S	2020-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-18		21.18	20.41	22.96	MinION_V3	99.6	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819434
CAMPI444	F	36	Valinhos		2020-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-18		26.22	27.09	28.23	MinION_V3	90.8	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819446
CAMPI447	M	27	Campinas	E	2020-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-18		31.00	31.00	33.00	MinION_V3	82.5	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819449
CAMPI508	M	23	Campinas	SW	2020-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-17		22.46	22.81	23.09	MinION_V4.1	97.04	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819508
CAMPI445	M	68	Campinas	E	2020-07-22	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-07-17		26.94	27.73	28.23	MinION_V3	93.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819447
CAMPI502	F	24	Campinas	E	2020-07-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-16		16.57	21.83	18.64	MinION_V3	98.85	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819502
CAMPI504	F	30	Campinas	S	2020-07-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-19		22.11	23.48	23.93	MinION_V3	96.86	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819504
CAMPI365	F	29	Campinas	E	2020-07-23	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-13		23.80	24.45	26.52	MinION_V3	97.9	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_13046403
CAMPI433	F	38	Campinas	SW	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-20		20.81	22.23	22.37	MinION_V3	97.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819435
CAMPI438	F	31	Campinas	E	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-20		22.09	20.71	22.92	MinION_V3	85.4	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819440
CAMPI439	M	37	Campinas	E	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-20		24.15	24.13	26.42	MinION_V3	91.7	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819441
CAMPI501	M	63	Campinas	SW	2020-07-23	HC	NFS	Yes	Severe	Released	2020-06-30		27.93	26.66	29.40	MinION_V3	82.23	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819501
CAMPI503	M	41	Campinas	E	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-22		22.58	21.60	23.47	MinION_V3	96.08	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819503
CAMPI505	F	48	Campinas	NW	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-20		17.14	18.73	17.95	MinION_V3	97.88	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819505
CAMPI500	M	69	Campinas	SW	2020-07-24	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-07-13		22.60	22.84	24.58	MinION_V3	92.33	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819500
CAMPI506	M	38	Campinas	NW	2020-07-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-22		18.95	29.58	20.86	MinION_V3	97.88	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819506
CAMPI507	F	19	Campinas	N	2020-07-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-22		18.70	19.73	20.62	MinION_V3	97.87	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819507
CAMPI509	M	47	Campinas	SW	2020-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-23		23.91	22.99	24.91	MinION_V4.1	99.58	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819509
CAMPI489	F	52	Campinas	SW	2020-07-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-28		25.23	26.96	26.88	MinION_V3	97.65	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819489
CAMPI492	M	27	Campinas	N	2020-07-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-22		25.09	25.23	27.74	MinION_V3	94.29	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819492
CAMPI493	F	58	Campinas	SW	2020-07-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-26		17.86	19.62	19.71	MinION_V3	96.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819493
CAMPI421	F	25	Campinas	N	2020-07-30	CAISM	NFS	No	Moderate	Released	2020-07-31		20.89	21.44	23.62	MinION_V3	98	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046405
CAMPI491	F	26	Campinas	N	2020-07-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-27		21.00	22.00	23.00	MinION_V3	96.08	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819491
CAMPI423	F	29	Campinas	S	2020-07-31	CAISM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		14.59	14.45	18.70	MinION_V3	98.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046404
CAMPI490	F	41	Campinas	E	2020-07-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-28		20.31	24.76	22.76	MinION_V3	96.06	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819490

CAMPI424	F	35	Campinas	E	2020-08-01	CAISM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		24.77	25.53	27.25	MinION_V3	96.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046406
CAMPI494	F	24	Campinas	N	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		26.84	27.93	28.43	MinION_V3	96.07	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819494
CAMPI495	M	34	Campinas	E	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-29		27.16	27.68	28.81	MinION_V3	84.03	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819495
CAMPI496	F	41	Campinas	NW	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		16.42	21.27	18.00	MinION_V3	98.87	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819496
CAMPI497	M	29	Campinas	S	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-30		19.97	21.37	21.58	MinION_V3	96.07	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819497
CAMPI440	M	41	Campinas	S	2020-08-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-07		22.70	24.30	24.90	MinION_V3	88	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819442
CAMPI441	F	28	Campinas	E	2020-08-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-07		17.80	19.50	20.20	MinION_V3	80.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819443
CAMPI473	F	40	Campinas	N	2020-08-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-07		22.32	26.95	24.61	MinION_V3	72.92	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819473
CAMPI425	F	22	Campinas	N	2020-08-17	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-16		17.58	18.14	18.68	MinION_V3	97	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_13046407
CAMPI442	M	36	Campinas	SW	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-13		22.42	23.69	25.45	MinION_V3	82.1	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819444
CAMPI448	F	37	Campinas	NW	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-11		19.49	20.48	20.53	MinION_V3	85.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819450
CAMPI784	M	49	Campinas	N	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-12		18.77	19.72	20.46	MinION_V3	75.73	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819724
CAMPI783	F	58	Campinas	S	2020-08-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-14	900-01-00	20.80	21.60	22.90	MinION_V3	84.38	B.1.401	non-VOC	EPI_ISL_17819723
CAMPI785	M	32	Campinas	E	2020-08-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-20		19.19	20.27	21.93	MinION_V3	83.26	B.1.401	non-VOC	EPI_ISL_17819725
CAMPI786	F	25	Campinas	E	2020-08-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-24		20.54	20.99	22.59	MinION_V3	71.48	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819726
CAMPI788	F	46	Campinas	E	2020-09-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-29		20.83	20.09	22.54	MinION_V3	73.04	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819727
CAMPI789	F	46	Campinas	N	2020-09-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-30		18.20	18.90	19.80	MinION_V3	84.33	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819728
CAMPI485	F	51	Campinas	SW	2020-09-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-31		23.69	24.11	25.24	MinION_V3	95.11	B.1	non-VOC	EPI_ISL_17819485
CAMPI791	F	46	Campinas	N	2020-09-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-01		16.73	17.63	18.65	MinION_V3	86.88	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819729
CAMPI792	M	18	Campinas	SW	2020-09-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-08		21.21	21.55	22.85	MinION_V3	83.27	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819730
CAMPI422	F	41	Campinas	N	2020-09-14	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-14		25.28	25.70	27.10	MinION_V3	94.7	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046408
CAMPI794	F	29	Campinas	S	2020-09-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-10		19.57	19.90	21.33	MinION_V3	83.25	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819731
CAMPI798	F	41	Campinas	NW	2020-09-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-17		18.13	19.69	21.05	MinION_V3	84.06	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819732
CAMPI799	F	25	Campinas	E	2020-09-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-25		21.43	22.55	26.50	MinION_V3	87.43	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819733
CAMPI182	F	61	Campinas	E	2020-09-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-28		20.45	20.52	22.65	MinION_V3	97.2	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_1511399
CAMPI183	F	31	Paulinia		2020-10-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-30		23.72	23.48	25.67	MinION_V3	66.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_1511603
CAMPI801	F	26	Campinas	E	2020-10-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		24.39	25.49	26.05	MinION_V3	83.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819735
CAMPI800	M	57	Campinas	E	2020-10-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-16		20.21	21.31	22.57	MinION_V3	80.3	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819734
CAMPI374	F	23	Campinas	N	2020-11-06	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-31		18.93	19.55	21.22	MinION_V3	93.8	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046409
CAMPI317	F	39	Campinas	NW	2020-11-21	CAISM	NFS	Yes	Mild	Released	2020-11-18		17.43	17.40	20.30	MinION_V3	97.7	B.1.1.332	non-VOC	EPI_ISL_13046410
CAMPI318	F	28	Campinas	E	2020-11-28	CAISM	NFS	Yes	Severe	Released	2020-11-26		18.97	19.36	21.18	MinION_V3	98	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046411
CAMPI184	M	42	Artur Nogueira		2020-12-02	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-11-30		18.40	18.22	20.62	MinION_V3	90.6	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819357
CAMPI420	F	unknown	Campinas	unknown	2020-12-04	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-04		18.81	18.78	21.74	MinION_V3	98.9	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046412
CAMPI366	F	39	Campinas	N	2020-12-05	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-02		27.12	26.85	29.07	MinION_V3	98.7	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046413
CAMPI185	M	38	Hortolandia		2020-12-09	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-11-24		22.92	22.68	25.13	MinION_V3	90.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819358
CAMPI269	M	72	NovaOdessa		2020-12-24	HES	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		19.22	21.48	22.96	MinION_V3	97.8	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819372
CAMPI330	F	30	Campinas	N	2020-12-24	CAISM	NFS	Yes	Moderate	Released	2020-12-24		21.87	23.17	24.88	MinION_V3	96.6	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046415
CAMPI188	M	68	Sumare		2020-12-31	_surveillar	NFS	Yes	Severe	Deceased	2020-12-25		19.66	20.92	22.31	MinION_V3	90.6	P.2	Zeta	
CAMPI367	F	38	Campinas	S	2021-01-02	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-31		23.64	25.01	26.35	MinION_V3	93.9	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046416
CAMPI189	M	6	Amparo		2021-01-03	_surveillar	NFS	Yes	Mild	Released	Asymptomatic		18.94	19.41	22.03	MinION_V3	92.1	B.1.1.33	non-VOC	
CAMPI190	M	24	Campinas	unknown	2021-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		17.59	18.99	21.22	MinION_V3	93.6	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819359
CAMPI368	F	32	Mogi Guaçu		2021-01-04	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		23.67	24.87	26.09	MinION_V3	96.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046417
CAMPI614	M	39	Campinas	N	2021-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-30		20.60	22.15	22.78	MinION_V4.1	98.03	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819600
CAMPI615	F	31	Campinas	S	2021-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		23.61	24.03	26.45	MinION_V4.1	92.71	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819601
CAMPI616	M	36	Campinas	NW	2021-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-29		23.19	23.76	26.07	MinION_V4.1	98.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819602
CAMPI617	M	32	Campinas	N	2021-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		29.18	29.31	31.92	MinION_V4.1	90.75	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819603
CAMPI192	M	25	Artur Nogueira		2021-01-05	_surveillar	NFS	Yes	Mild	Released	Asymptomatic		19.36	21.03	22.44	MinION_V3	95	B.1.1.33	non-VOC	
CAMPI270	F	52	Hortolandia		2021-01-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		24.28	25.71	28.13	MinION_V3	96.6	B.1.1.332	non-VOC	
CAMPI369	F	34	Hortolandia		2021-01-06	CAISM	NFS	Yes	Mild	Released	2021-01-01		25.33	26.13	28.10	MinION_V3	91.2	P.2	Zeta	EPI_ISL_13046418
CAMPI474	M	58	Campinas	E	2021-01-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-02		21.85	22.86	25.27	MinION_V3	88.41	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819474
CAMPI475	F	29	Campinas	S	2021-01-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-01		24.92	24.99	27.44	MinION_V3	90.01	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819475
CAMPI618	F	45	Campinas	SW	2021-01-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-03		22.53	24.06	25.73	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819604
CAMPI498	M	29	Campinas	N	2021-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-04		22.60	24.70	27.00	MinION_V3	97.86	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819498
CAMPI499	M	50	Campinas	S	2021-01-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-08		24.50	25.50	29.20	MinION_V3	97.87	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819499
CAMPI476	M	81	Campinas	E	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-08		19.26	20.72	23.45	MinION_V3	82.14	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819476
CAMPI477	F	39	Campinas	NW	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-09		15.47	16.84	18.43	MinION_V3	92.88	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819477
CAMPI619	F	38	Campinas	S	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-06		19.57	20.70	22.77	MinION_V4.1	81.83	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819605
CAMPI620	F	32	Campinas	N	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-07		27.07	29.21	30.35	MinION_V4.1	97.14	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819606
CAMPI621	M	30	Campinas	S	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-06		20.44	21.01	23.85	MinION_V4.1	91.49	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819607
CAMPI622	M	56	Campinas	E	2021-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-07		18.89	20.39	21.88	MinION_V4.1	99.55	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819608
CAMPI624	F	38	Campinas	SW	2021-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-09		23.38	24.83	24.42	MinION_V4.1	93.67	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819610
CAMPI186	M	2	Várzea Paulista		2021-01-13	_surveillar	NFS	Yes	Moderate	Released	2021-01-12		17.91	19.56	21.52	MinION_V3	90.6	B.1.1.28	non-VOC	
CAMPI623	M	45	Campinas	E	2021-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-08		18.66	19.86	21.61	MinION_V4.1	98.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819609
CAMPI478	M	51	Campinas	E	2021-01-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-10		20.37	22.40	24.24	MinION_V3	89.5	B.1.1.33	non-VOC	EPI_ISL_17819478
CAMPI331	F	25	Campinas	N	2021-01-15	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-15		22.34	24.03	26.24	MinION_V3	83.9	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_13046419
CAMPI486	M	58	Campinas	SW	2021-01-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-14		17.20	18.90	20.70	MinION_V3	98.87	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819486
CAMPI479	F	26	Campinas	N	2021-01-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-18		23.85	25.63	27.30	MinION_V3	80.3	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819479
CAMPI625	F	24	Campinas	S	2021-01-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-15		21.47	22.87	24.36	MinION_V4.1	89.47	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819611
CAMPI626	F	55	Campinas	E	2021-01-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-17		19.79	20.92	21.91	MinION_V4.1	98.01	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819612
CAMPI627	M	35	Campinas	S	2021-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-18		23.32	24.90	26.66	MinION_V4.1	98.89	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819613
CAMPI628	F	37	Campinas	SW	2021-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-18		23.48	25.31	26.25	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819614
CAMPI629	M	24	Campinas	N	2021-01-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-20		16.93	18.17	19.87	MinION_V4.1	97	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819615
CAMPI630	F	57	Campinas	SW	2021-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-20		20.11	21.08	23.01	MinION_V4.1	97.85	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819616
CAMPI631	F	58	Campinas	SW	2021-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-22		15.91	17.32	19.85	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819617
CAMPI632	M	52	Campinas	E	2021-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-22		29.89	24.77	27.16	MinION_V4.1	86.45	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819618
CAMPI480	F	31	Campinas	N	2021-01-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-26		17.34	18.95	21.21	MinION_V3	73.2	B.1.1.28	non-VOC	EPI_ISL_17819480
CAMPI481	F	38	Campinas	N	2021-01-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-25		20.35	27.31	23.81	MinION_V3	78.4	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819481
CAMPI482	F	68	Campinas	NW	2021-01-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-27		25.85	27.03	28.96	MinION_V3	80.1	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819482
CAMPI289	M	77	Campinas	unknown	2021-02-01	nas_surve	TA	Yes	Severe	Deceased	2021-01-12	22.81				MinION_V3	76.3	P.1	Gamma	EPI_ISL_12427860
CAMPI483	F	40	Campinas	NW	2021-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-30		22.69	24.36	25.91	MinION_V3	84.7	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819483
CAMPI204	M	76	Campinas	N	2021-02-02	HC	TA	Yes	Severe	Deceased	2021-01-21		19.84	21.57	23.15	MinION_V3	82.7	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819361
CAMPI205	M	39	Valinhos		2021-02-03	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2021-01-26		21.11	22.58	24.43	MinION_V3	83.7	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819362
CAMPI203	M	47	Piracicaba		2021-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-30		20.88	23.56	22.50	MinION_V3	93.8	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819360
CAMPI206	M	68	Campinas	S	2021-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-27		19.36	20.53	21.42	MinION_V3	92.7	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819363
MPIL15-NB	F	27	Itatiba		2021-02-03	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		19.50	21.98	22.20	MinION_V3	93.8	P.2	Zeta	
CAMPI487	F	29	Campinas	S	2021-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-03		22.30	24.70	24.80	MinION_V3	97.97	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819487
MPIL15-NB	M	55	Campinas	N	2021-02-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-25		16.85	18.30	19.20	MinION_V3	87.1	P.1.14	Gamma	
CAMPI236	F	16	Campinas	N	2021-02-04	HC	NFS	Yes	Mild	Released	unknown		20.18	21.59	23.43	MinION_V3	98.1	B.1.1	non-VOC	
CAMPI484	F	53	Campinas	N	2021-02-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-04		15.50	17.27	17.74	MinION_V3	83.6	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819484
CAMPI636	F	34	Campinas	SW	2021-02-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-30		17.56	19.58	20.01	MinION_V4.1	91.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819621
MPIL15-NB	M	67	Boituva		2021-02-05	HC	TA	Yes	Severe	Deceased	2021-02-01		14.41	16.47	16.66	MinION_V3	68.7	P.2	Zeta	
MPIL15-NB	M	25	Campinas	N	2021-02-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-30		17.61	19.79	19.76	MinION_V3	86.6	P.2	Zeta	
CAMPI272	F	56	Hortolandia		2021-02-05	HES	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		25.74	27.44	28.88	MinION_V3	85.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819374
MPIL15-NB	M	53	Campinas	N	2021-02-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-04		16.48	18.30	19.68	MinION_V3	93.7	B.1.1.33	non-VOC	
MPIL15-NB	F	76	Campinas	N	2021-02-08	HC	NFS	No	Mild	Released	unknown		18.43	20.47	21.60	MinION_V3	96.4	B.1.1.28	non-VOC	
MPIL15-NB	F	73	Hortolandia		2021-02-08	HC	NFS	Yes	Mild	Released	unknown		15.58	17.53	17.88	MinION_V3	69.4	B.1.1.28	non-VOC	
MPIL15-NB	F	44	Campinas	unknown	2021-02-08	CAISM	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		17.24	18.76	19.22	MinION_V3	91.6	P.1.14	Gamma	
MPIL15-NB	F	34	Campinas	E	2021-02-08	CAISM	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		20.83	22.21	22.89	MinION_V3	92	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819742
MPIL15-NB	F	24	Campinas	N	2021-02-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-06		17.21	19.68	19.32	MinION_V3	76.5	P.1.14	Gamma	
CAMPI237	F	41	Morungaba		2021-02-09	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-02-04		24.21	26.35	26.63	MinION_V3	96.4	P.1.14	Gamma	
MPIL15-NB	F	27	São Pedro		2021-02-10	HC	NFS	Yes	Asymptomatic	Released	Asymptomatic		24.90	26.94	27.66	MinION_V3	93.8	B.1.1.28	non-VOC	
MPIL15-NB	F	68	Campinas	SW	2021-02-10	HC	TA	Yes	Severe	Deceased	2021-02-08		16.34	18.59	19.38	MinION_V3	97.8	P.2	Zeta	
MPIL15-NB	F	29	Valinhos		2021-02-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-08		14.45	14.93	15.79	MinION_V3	96.1	P.1	Gamma	
CAMPI290	F	41	Campinas	unknown	2021-02-11	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	2021-02-03	18				MinION_V3	96.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_12427861
MPIL15-NB	F	27	Campinas	N	2021-02-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-10		17.79	19.17	19.61	MinION_V3	94.5	P.1	Gamma	
CAMPI488	M	27	Campinas	N	2021-02-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-07		16.80	17.60	19.00	MinION_V3	98.63	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819488
CAMPI634	F	37	Campinas	SW	2021-02-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-10		16.48	17.99	18.72	MinION_V4.1	87.26	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819619
CAMPI232	F	51	Campinas	E	2021-02-13	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2021-02-12		15.75	16.82	17.63	MinION_V3	98.6	P.1.14	Gamma	
CAMPI233	F	26	Campinas	N	2021-02-13	CAISM	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		18.95	20.13	21.20	MinION_V3	95.4	P.1.14	Gamma	
CAMPI234	F	50	Sumare		2021-02-13	HC	NFS	Yes	Mild	Released	unknown		18.22	19.67	20.25	MinION_V3	91.1	P.1.14	Gamma	

CAMPI635	F	40	Campinas	S	2021-02-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-11		25.62	27.06	27.42	MinION_V4.1	76.89	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819620
CAMPI298	M	52	Campinas	E	2021-02-17	HC	NFS	Yes	Moderate	Released	2021-02-10		24.39	25.67	26.76	MinION_V3	97.2	P.1	Gamma	
CAMPI302	M	80	Campinas	N	2021-02-19	HC	TA	Yes	Severe	Deceased	2021-02-18		18.44	19.52	21.65	MinION_V3	97.7	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819390
CAMPI637	M	35	Campinas	N	2021-02-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-14		15.50	16.79	17.33	MinION_V4.1	98.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819622
CAMPI320	F	20	Campinas	E	2021-02-21	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-19		18.46	19.99	22.12	MinION_V3	91.5	P.1	Gamma	EPI_ISL_13046420
CAMPI638	F	35	Campinas	E	2021-02-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-20		16.00	17.26	18.81	MinION_V4.1	97.15	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819623
CAMPI639	F	34	Campinas	E	2021-02-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-16		19.67	20.63	22.52	MinION_V4.1	97.2	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819624
CAMPI253	F	23	Artur Nogueira		2021-02-24	CAISM	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-02-16		26.58	27.72	30.50	MinION_V3	97.2	P.1.12	Gamma	EPI_ISL_13046421
CAMPI321	F	36	Serra Negra		2021-02-24	CAISM	NFS	No	Asymptomatic	Released	Asymptomatic		19.46	20.73	21.82	MinION_V3	75	P.1	Gamma	EPI_ISL_13046422
CAMPI310	F	40	Campinas	unknown	2021-02-27	Rio SM Jaq	NFS	No	Mild	Released	unknown					MinION_V3	94.4	P.2	Zeta	
CAMPI322	F	65	Hortolandia		2021-02-28	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-24		19.45	21.34	21.60	MinION_V3	94.5	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819391
CAMPI266	F	62	Campinas	N	2021-03-02	_surveillar	NFS	No	Mild	Released	2021-02-26					MinION_V3	91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819371
CAMPI327	F	25	Campinas	E	2021-03-02	CAISM	NFS	Yes	Severe	Released	2021-02-25		22.16	23.67	24.89	MinION_V3	91.9	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_13046428
CAMPI297	M	41	Campinas	E	2021-03-03	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-02-23		20.94	22.57	23.45	MinION_V3	91.2	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819386
CAMPI328	F	39	Campinas	unknown	2021-03-03	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-28		17.89	19.22	20.20	MinION_V3	97	B.1.2	non-VOC	EPI_ISL_13046436
CAMPI296	M	62	Campinas	N	2021-03-04	_surveillar	NFS	Yes	Moderate	Released	2021-03-01		25.42		27.68	MinION_V3	94.6	P.1	Gamma	
CAMPI329	F	30	Campinas	S	2021-03-04	CAISM	NFS	No	Severe	Released	2021-03-02		19.14	20.56	21.66	MinION_V3	96.6	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_13046437
CAMPI265	M	43	Paulinia		2021-03-08	_surveillar	NFS	No	Mild	Released	2021-03-06					MinION_V3	96.5	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819370
CAMPI264	M	35	Campinas	N	2021-03-09	_surveillar	NFS	No	Mild	Released	2021-03-06					MinION_V3	97.2	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819369
CAMPI271	M	71	Sumare		2021-03-09	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		25.65	27.06	28.44	MinION_V3	90.1	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819373
CAMPI449	F	44	Hortolandia		2021-03-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-06		15.81	16.94	18.47	MinION_V3	85.1	B.1.1	non-VOC	EPI_ISL_17819451
CAMPI309	F	42	Campinas	unknown	2021-03-10	nas_surve	NFS	No	unknown	unknown	unknown					MinION_V3	73.1	P.1.14	Gamma	
CAMPI299	F	6	Mogi Mirim		2021-03-10	HC	NFS	Yes	Severe	Deceased	unknown		15.22	16.71	17.27	MinION_V3	91.2	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819387
CAMPI651	F	59	Campinas	E	2021-03-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-10		17.71	19.47	19.70	MinION_V4.1	98.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819625
CAMPI652	M	47	Campinas	N	2021-03-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-12		16.28	17.28	18.73	MinION_V4.1	99.52	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819626
CAMPI653	F	51	Campinas	S	2021-03-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-10		15.58	16.97	17.59	MinION_V4.1	99.54	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819627
CAMPI371	F	36	Casa Branca		2021-03-16	CAISM	NFS	Yes	Asymptomatic	Released	Asymptomatic		24.43	26.00	26.91	MinION_V3	96.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046429
CAMPI258	M	51	Campinas	S	2021-03-17	nas_surve	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-03-12	25.52				MinION_V3	96.4	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819368
CAMPI273	M	67	Sumare		2021-03-17	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		23.79	24.65	27.14	MinION_V3	88.3	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819375
CAMPI323	F	30	Campinas	S	2021-03-17	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-14		19.90	20.84	21.70	MinION_V3	92.6	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046423
CAMPI654	F	60	Campinas	E	2021-03-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-15		17.46	18.35	20.22	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819628
CAMPI655	F	63	Campinas	NW	2021-03-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-09		19.44	20.02	23.97	MinION_V4.1	72.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819629
CAMPI656	F	61	Campinas	S	2021-03-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-16		16.65	17.53	18.94	MinION_V4.1	90.83	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819630
CAMPI275	F	54	Holambra		2021-03-20	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		16.70	18.30	20.71	MinION_V3	90.4	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819377
CAMPI276	F	66	Sumare		2021-03-20	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		26.45	28.10	29.31	MinION_V3	87.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819378
CAMPI277	F	50	Sumare		2021-03-20	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		26.45	27.63	29.52	MinION_V3	80.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819379
CAMPI278	M	56	Sumare		2021-03-22	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		23.63		26.90	MinION_V3	92.1	P.1.14	Gamma	
CAMPI279	F	50	Hortolandia		2021-03-22	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		22.28	23.49	24.94	MinION_V3	97.2	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819380
CAMPI274	M	32	Sumare		2021-03-23	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		18.36	20.58	21.74	MinION_V3	92.1	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819376
CAMPI280	M	65	Sumare		2021-03-23	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		18.53	20.72	21.96	MinION_V3	90.2	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819381
CAMPI325	F	28	Campinas	E	2021-03-24	CAISM	NFS	Yes	Severe	Released	2021-03-17		19.15	21.31	22.04	MinION_V3	84.6	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046425
CAMPI256	F	37	Sumare		2021-03-25	CAISM	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-03-24		14.84	15.95	17.46	MinION_V3	95.9	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_13046426
CAMPI249	F	82	Campinas	E	2021-03-25	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	2021-03-15	24	26.60	25.40	26.40	MinION_V3	94.8	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497849
CAMPI250	F	85	Campinas	E	2021-03-25	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	2021-03-18	26	28.80	28.20	29.10	MinION_V3	96.2	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497867
CAMPI251	F	82	Campinas	E	2021-03-25	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	2021-03-22	20	25.00	24.00	24.90	MinION_V3	97	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497881
CAMPI210	F	87	Campinas	E	2021-03-25	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	2021-03-01	29	33.10	31.20	32.80	MinION_V3	78.7	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497847
CAMPI657	F	37	Campinas	N	2021-03-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-23		15.95	18.73	18.48	MinION_V4.1	98.93	P.2	Zeta	EPI_ISL_17819631
CAMPI658	F	30	Campinas	E	2021-03-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-24		16.52	18.18	19.28	MinION_V4.1	90.79	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819632
CAMPI255	F	41	Jaguariúna		2021-03-27	CAISM	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-03-19		27.12	28.52	30.72	MinION_V3	88.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_13046427
CAMPI659	F	35	Campinas	S	2021-03-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-26		14.43	15.56	16.45	MinION_V4.1	98.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819633
CAMPI660	F	29	Campinas	NW	2021-03-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-27		20.48	22.09	23.66	MinION_V4.1	98.75	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819634
CAMPI254	F	24	Jaguariúna		2021-03-29	CAISM	NFS	Yes	Severe	unknown	unknown					MinION_V3	96.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046433
CAMPI257	M	76	Campinas	S	2021-03-29	nas_surve	NFS	Yes	Severe	Deceased	2021-03-14	20.97				MinION_V3	97.2	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819367
CAMPI282	M	49	Sumare		2021-03-29	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown					MinION_V3	91.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819383
CAMPI372	F	33	Cosmópolis		2021-03-29	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-22		22.11	23.74	26.31	MinION_V3	96.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_13046430
CAMPI260	M	69	Campinas	N	2021-03-30	nas_surve	NFS	No	Asymptomatic	Released	Asymptomatic	22.5	29.00	27.50	28.80	MinION_V3	97	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497882
CAMPI262	F	77	Campinas	N	2021-03-30	nas_surve	NFS	No	Asymptomatic	Released	Asymptomatic	24.1	30.10	28.80	30.40	MinION_V3	92.8	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497898
CAMPI263	F	98	Campinas	N	2021-03-30	nas_surve	NFS	No	Asymptomatic	Released	Asymptomatic	23.2	29.60	27.50	30.00	MinION_V3	96.2	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497906
CAMPI212	F	70	Campinas	N	2021-03-30	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic	28.5	36.90	32.30	35.00	MinION_V3	90.3	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497896
CAMPI213	F	108	Campinas	N	2021-03-30	nas_surve	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic	28.2	43.10	31.40	35.40	MinION_V3	92.8	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_2497923
CAMPI373	F	17	Campinas	E	2021-03-30	CAISM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-27		25.47	24.66	25.12	MinION_V3	90.1	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046434
CAMPI375	F	36	Vinhedo		2021-03-30	CAISM	NFS	Yes	Asymptomatic	Released	Asymptomatic		24.88	23.79	24.63	MinION_V3	95.5	P.1	Gamma	EPI_ISL_13046431
CAMPI376	F	35	Pedreira		2021-03-31	CAISM	NFS	Yes	Mild	Released	2021-03-29		18.21	18.82	18.56	MinION_V3	97	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_13046432
CAMPI281	M	31	Sumare		2021-04-03	EXTERNO	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		29.19	27.05	27.96	MinION_V3	71.9	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819382
CAMPI426	F	unknown	Campinas	unknown	2021-04-03	CAISM	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		21.57	20.26	21.54	MinION_V3	92.9	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_13046435
CAMPI673	M	34	Campinas	SW	2021-04-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-13		21.13	19.43	20.85	MinION_V4.1	92.46	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819646
CAMPI211	M	26	Campinas	N	2021-04-15	HC	NFS	No	Mild	Released	2021-04-16		20.54	18.83	20.31	MinION_V3	97.8	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819366
CAMPI661	F	unknown	Campinas	unknown	2021-04-19	HC	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		21.92	17.90	22.51	MinION_V4.1	98.55	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819635
CAMPI674	F	30	Campinas	S	2021-04-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-18		17.45	16.47	16.88	MinION_V4.1	95.48	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819647
CAMPI675	F	39	Campinas	N	2021-04-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-17		16.49	15.95	16.43	MinION_V4.1	98.16	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819648
CAMPI676	F	71	Campinas	NW	2021-04-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-16		18.41	18.53	18.33	MinION_V4.1	99.55	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819649
CAMPI300	F	36	Campinas	E	2021-04-21	Boldrini	NFS	No	Mild	Released	2021-04-19					MinION_V3	96.2	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819388
CAMPI677	F	36	Campinas	S	2021-04-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-21		18.62	17.45	18.38	MinION_V4.1	98.9	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819650
CAMPI678	M	45	Campinas	N	2021-04-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-20		19.78	17.59	19.89	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819651
CAMPI301	F	30	Sumare		2021-04-24	Boldrini	NFS	No	Mild	Released	2021-04-23					MinION_V3	97	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819389
CAMPI679	F	58	Campinas	N	2021-04-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-24		22.31	21.63	21.58	MinION_V4.1	83.28	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819652
CAMPI680	F	39	Campinas	SW	2021-04-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-21		25.96	24.17	26.00	MinION_V4.1	74.99	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819653
CAMPI681	M	45	Campinas	S	2021-04-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-25		15.99	39.65	16.56	MinION_V4.1	99.5	P.1.14	Gamma	
CAMPI682	F	31	Campinas	SW	2021-04-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-26		17.00	16.95	17.22	MinION_V4.1	94.67	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819654
CAMPI683	F	43	Campinas	SW	2021-04-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-27		19.90	20.68	20.46	MinION_V4.1	98.01	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819655
CAMPI684	F	54	Campinas	NW	2021-04-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-26		15.79	16.02	16.39	MinION_V4.1	98.8	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819656
CAMPI685	F	31	Campinas	SW	2021-04-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-28		21.41	21.83	21.87	MinION_V4.1	95.29	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819657
CAMPI209	F	37	Campinas	NW	2021-05-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-01		19.40	19.07	19.73	MinION_V3	93.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819365
CAMPI663	F	52	Campinas	SW	2021-05-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-25		18.56	18.98	18.92	MinION_V4.1	82.6	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819636
CAMPI664	F	20	Campinas	N	2021-05-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-02		15.95	15.99	16.36	MinION_V4.1	86.32	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819637
CAMPI665	M	53	Campinas	N	2021-05-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-29		18.18	19.28	19.29	MinION_V4.1	87.95	P.1.10	Gamma	EPI_ISL_17819638
CAMPI666	F	50	Campinas	SW	2021-05-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-29		24.92	24.78	25.52	MinION_V4.1	70.69	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819639
CAMPI667	M	41	Campinas	S	2021-05-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-04-30		25.57	25.58	25.43	MinION_V4.1	86.39	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819640
CAMPI668	F	33	Campinas	E	2021-05-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-03		18.66	19.17	18.84	MinION_V4.1	99.52	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819641
CAMPI669	F	57	Campinas	N	2021-05-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-04		19.18	19.89	19.71	MinION_V4.1	95.31	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819642
CAMPI554	M	28	Campinas	N	2021-05-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-05		17.95	18.66	18.56	MinION_V4.1	92.29	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819549
CAMPI555	F	35	Campinas	SW	2021-05-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-08		19.63	19.54	20.42	MinION_V4.1	96.28	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819550
CAMPI556	M	40	Campinas	N	2021-05-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-07		15.43	15.85	15.91	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819551
CAMPI557	F	23	Campinas	E	2021-05-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-10		16.28	15.96	16.68	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819552
CAMPI558	M	36	Campinas	E	2021-05-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-11		16.93	16.91	17.37	MinION_V4.1	98.76	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819553
CAMPI208	F	42	Mogi Guaçu		2021-05-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-09		14.11	13.70	14.22	MinION_V3	95.4	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819364
CAMPI559	F	39	Campinas	N	2021-05-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-13		14.52	15.14	14.89	MinION_V4.1	97.89	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819554
CAMPI560	F	15	Campinas	N	2021-05-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-12		20.95	22.23	21.78	MinION_V4.1	89.53	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819555
CAMPI561	F	26	Campinas	N	2021-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-13		24.15	24.33	24.40	MinION_V4.1	72.3	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819556
CAMPI562	F	32	Campinas	E	2021-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-15		15.85	16.47	15.93	MinION_V4.1	97.12	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819557
CAMPI563	F	53	Campinas	E	2021-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-18		19.38	20.11	19.59	MinION_V4.1	93.11	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819558
CAMPI566	F	62	Campinas	E	2021-05-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-16		14.95	15.14	15.24	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819559
CAMPI570	F	35	Campinas	E	2021-05-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-18		18.91	19.59	19.62	MinION_V4.1	97.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819561
CAMPI404	F	51	Campinas	E	2021-05-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-29		17.37	18.09	17.94	MinION_V3	99.6	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819412
CAMPI567	M	33	Campinas	S	2021-05-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-17		17.22	17.90	17.52	MinION_V4.1	96.28	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819560
CAMPI572	M	29	Campinas	N	2021-05-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-22		19.00	19.01	19.66	MinION_V4.1	95.55	P.1	Gamma	
CAMPI573	F	55	Campinas	E	2021-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-24		15.31	15.94	15.65	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819562
CAMPI576	M	55	Campinas	N	2021-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-21		15.61	16.14	15.80	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819565
CAMPI578	F	52	Campinas	N	2021-05-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-24		18.62	19.37	18.48	MinION_V4.1	97.03	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819567
CAMPI574	M	23	Campinas	S	2021-05-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-24		16.40	17.90	17.31	MinION_V4.1	96.22	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819563

CAMPI575	F	35	Campinas	SW	2021-05-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-25		17.63	19.77	19.29	MinION_V4.1	98.02	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819564
CAMPI577	M	58	Campinas	N	2021-05-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-24		16.92	15.92	17.60	MinION_V4.1	98.75	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819566
CAMPI579	F	39	Campinas	N	2021-05-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-28		16.46	17.06	16.99	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819568
CAMPI580	F	48	Campinas	N	2021-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-29		16.25	16.75	16.61	MinION_V4.1	98.75	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819569
CAMPI581	M	28	Campinas	E	2021-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-29		19.40	20.12	19.67	MinION_V4.1	96.28	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819570
CAMPI582	F	57	Campinas	N	2021-06-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-01		18.30	17.80	18.98	MinION_V4.1	96.27	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819571
CAMPI584	F	43	Campinas	E	2021-06-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-01		18.26	19.91	19.14	MinION_V4.1	99.55	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819572
CAMPI585	F	48	Campinas	E	2021-06-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-31		22.51	23.00	22.92	MinION_V4.1	96.3	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819573
CAMPI586	F	21	Campinas	N	2021-06-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-02		23.89	24.77	24.36	MinION_V4.1	97.86	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819574
CAMPI587	M	52	Campinas	SW	2021-06-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-04		15.59	15.61	16.00	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819575
CAMPI588	F	50	Campinas	S	2021-06-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-04		19.14	19.66	19.66	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819576
CAMPI589	F	50	Campinas	S	2021-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-06		20.34	20.23	20.69	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819577
CAMPI590	M	51	Campinas	NW	2021-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-04		19.33	18.80	19.98	MinION_V4.1	98.75	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819578
CAMPI591	F	40	Campinas	SW	2021-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-05		14.77	15.07	15.11	MinION_V4.1	99.56	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819579
CAMPI592	M	46	Campinas	S	2021-06-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-06		15.65	16.00	16.41	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819580
CAMPI593	M	46	Campinas	NW	2021-06-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-07		18.81	18.14	19.96	MinION_V4.1	98.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819581
CAMPI594	F	23	Campinas	S	2021-06-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-08		17.70	17.71	18.52	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819582
CAMPI595	F	27	Campinas	S	2021-06-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-07		16.90	17.37	17.52	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819583
CAMPI600	F	24	Campinas	N	2021-06-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-09		21.21	22.63	21.94	MinION_V4.1	99.56	P.1.11	Gamma	EPI_ISL_17819588
CAMPI601	F	34	Campinas	E	2021-06-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-12		19.96	20.00	21.01	MinION_V4.1	99.53	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819589
CAMPI602	F	34	Campinas	N	2021-06-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-14		26.71	10.17	20.66	MinION_V4.1	98.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819590
CAMPI603	M	33	Campinas	N	2021-06-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-11		17.71	18.18	18.43	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819591
CAMPI596	M	52	Campinas	S	2021-06-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-13		26.54	27.98	27.42	MinION_V4.1	96.23	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819584
CAMPI604	M	56	Campinas	E	2021-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-11		23.00	22.90	23.89	MinION_V4.1	93.14	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819592
CAMPI597	M	57	Campinas	SW	2021-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-13		18.17	18.81	18.70	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819585
CAMPI598	F	34	Campinas	N	2021-06-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		29.63	29.62	29.74	MinION_V4.1	83.94	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819586
CAMPI599	M	47	Campinas	SW	2021-06-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-15		22.48	23.54	22.78	MinION_V4.1	97.08	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819587
CAMPI605	M	32	Campinas	S	2021-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-12		28.47	28.76	28.67	MinION_V4.1	81.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819593
CAMPI606	F	39	Campinas	N	2021-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-15		17.99	18.12	18.46	MinION_V4.1	99.56	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819594
CAMPI608	M	36	Campinas	NW	2021-06-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-15		16.76	17.64	17.19	MinION_V4.1	92.77	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819595
CAMPI609	M	55	Campinas	SW	2021-06-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-18		26.33	25.73	26.81	MinION_V4.1	81.37	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819596
CAMPI610	M	29	Campinas	E	2021-06-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-18		18.41	18.95	19.37	MinION_V4.1	92.95	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819597
CAMPI611	F	32	Campinas	E	2021-06-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-19		20.24	20.71	20.87	MinION_V4.1	96.45	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819598
CAMPI612	F	33	Campinas	E	2021-06-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-17		20.87	20.67	21.69	MinION_V4.1	98.82	P.1	Gamma	
CAMPI613	M	24	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-19		20.62	21.89	21.46	MinION_V4.1	97.23	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819599
CAMPI686	M	29	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-21		16.99	18.63	17.82	MinION_V4.1	98.7	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819658
CAMPI687	F	42	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-20		21.19	22.68	22.49	MinION_V4.1	75.23	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819659
CAMPI688	M	29	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-21		14.27	14.39	14.82	MinION_V4.1	80.48	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819660
CAMPI689	M	47	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-22		15.62	15.81	16.98	MinION_V4.1	93.7	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819661
CAMPI690	F	50	Campinas	NW	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-21		16.43	17.83	17.50	MinION_V4.1	87.54	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819662
CAMPI691	M	27	Campinas	N	2021-06-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-14		26.79	26.58	28.16	MinION_V4.1	80.4	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819663
CAMPI692	M	33	Campinas	E	2021-06-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-23		16.90	17.81	17.49	MinION_V4.1	97.13	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819664
CAMPI693	F	23	Campinas	E	2021-06-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-20		24.72	24.05	25.99	MinION_V4.1	92.86	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819665
CAMPI694	F	21	Campinas	N	2021-06-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-23		17.37	17.96	17.97	MinION_V4.1	99.55	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819666
CAMPI695	M	25	Campinas	E	2021-06-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-23		18.80	19.34	19.66	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819667
CAMPI696	F	23	Campinas	N	2021-06-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-24		15.99	15.56	16.77	MinION_V4.1	98.81	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819668
CAMPI697	F	46	Campinas	S	2021-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-27		17.75	18.69	18.60	MinION_V4.1	99.52	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819669
CAMPI698	F	26	Campinas	E	2021-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-28		17.58	18.02	18.60	MinION_V4.1	94.82	P.1.12	Gamma	EPI_ISL_17819670
CAMPI699	M	25	Campinas	E	2021-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-27		16.86	17.45	17.31	MinION_V4.1	98.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819671
CAMPI700	F	36	Campinas	N	2021-06-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-27		17.35	18.39	18.53	MinION_V4.1	95.63	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819672
CAMPI701	M	24	Campinas	NW	2021-07-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-25		19.75	20.46	20.98	MinION_V4.1	92.53	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819673
CAMPI702	M	20	Campinas	N	2021-07-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-29		18.09	17.18	19.01	MinION_V4.1	97.1	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819674
CAMPI703	F	41	Campinas	S	2021-07-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-29		18.68	17.33	18.88	MinION_V4.1	94.74	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819675
CAMPI704	F	43	Campinas	SW	2021-07-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-01		18.50	17.70	19.51	MinION_V4.1	94.2	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819676
CAMPI705	F	31	Campinas	N	2021-07-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-29		19.90	19.29	19.95	MinION_V4.1	96.37	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819677
CAMPI707	M	20	Campinas	N	2021-07-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-29		15.51	15.52	16.30	MinION_V4.1	94.46	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819678
CAMPI709	F	55	Campinas	S	2021-07-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-04		18.25	18.18	19.25	MinION_V4.1	72.59	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819679
CAMPI710	M	34	Campinas	N	2021-07-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-02		18.63	19.32	18.90	MinION_V4.1	97.31	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819680
CAMPI711	M	25	Campinas	N	2021-07-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-03		17.94	16.80	19.34	MinION_V4.1	98.91	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819681
CAMPI712	M	62	Campinas	S	2021-07-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-06-26		16.94	17.81	17.33	MinION_V4.1	98.9	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819682
CAMPI510	F	41	Campinas	N	2021-07-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-08		20.72	20.32	21.54	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819510
CAMPI511	F	60	Campinas	SW	2021-07-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-11		15.58	14.36	17.04	MinION_V4.1	99.33	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819511
CAMPI513	M	32	Campinas	SW	2021-07-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-08		26.51	25.31	27.53	MinION_V4.1	97.63	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819512
CAMPI514	M	20	Campinas	E	2021-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-09		15.81	16.90	16.81	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819513
CAMPI515	F	51	Campinas	E	2021-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-11		20.99	20.38	21.91	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819514
CAMPI516	F	26	Campinas	N	2021-07-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-13		18.16	18.41	18.79	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819515
CAMPI517	F	35	Campinas	N	2021-07-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-13		19.30	19.80	20.15	MinION_V4.1	97.96	B.1.1.7	Alpha	EPI_ISL_17819516
CAMPI518	F	59	Campinas	E	2021-07-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-16		23.49	24.15	23.64	MinION_V4.1	98.76	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819517
CAMPI519	M	35	Campinas	N	2021-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-18		19.08	19.26	20.08	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819518
CAMPI520	M	20	Campinas	S	2021-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-19		18.56	17.95	19.72	MinION_V4.1	99.56	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819519
CAMPI521	F	64	Campinas	S	2021-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-20		15.47	14.44	17.53	MinION_V4.1	71.59	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819520
CAMPI522	F	34	Campinas	E	2021-07-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-19		22.49	23.25	23.19	MinION_V4.1	97.02	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819521
CAMPI523	F	50	Campinas	S	2021-07-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-19		18.68	18.15	19.47	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819522
CAMPI524	M	26	Campinas	E	2021-07-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-22		18.90	16.94	20.21	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819523
CAMPI525	F	60	Campinas	E	2021-07-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-21		17.22	17.88	17.76	MinION_V4.1	99.51	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819524
CAMPI526	F	41	Campinas	E	2021-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-05-18		25.21	25.07	26.21	MinION_V4.1	95.21	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819525
CAMPI527	F	59	Campinas	N	2021-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-19		16.79	17.65	17.41	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	
CAMPI528	M	37	Campinas	S	2021-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-21		20.86	19.25	21.46	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819526
CAMPI670	M	38	Campinas	E	2021-07-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-24		26.67	26.08	27.38	MinION_V4.1	96.28	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819643
CAMPI529	F	46	Campinas	S	2021-07-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-22		19.09	19.25	19.67	MinION_V4.1	99.59	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819527
CAMPI530	M	28	Campinas	NW	2021-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-23		19.52	20.53	23.10	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819528
CAMPI531	F	52	Campinas	S	2021-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-26		16.13	16.06	16.70	MinION_V4.1	99.56	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819529
CAMPI532	M	40	Campinas	N	2021-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-24		18.57	18.23	19.47	MinION_V4.1	99.56	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819530
CAMPI533	F	29	Campinas	S	2021-07-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-26		19.59	20.49	23.76	MinION_V4.1	99.54	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819531
CAMPI534	M	30	Campinas	S	2021-07-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-25		17.84	18.20	22.22	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819532
CAMPI536	F	33	Campinas	E	2021-07-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-26		19.57	19.23	20.29	MinION_V4.1	99.56	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819533
CAMPI408	M	80	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		28.12	27.09	29.11	MinION_V3	94	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819416
CAMPI409	F	98	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		20.13	19.28	21.36	MinION_V3	99	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819417
CAMPI410	F	85	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		22.74	21.69	23.99	MinION_V3	98.1	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819418
CAMPI411	F	90	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		24.06	22.74	25.20	MinION_V3	98.1	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819419
CAMPI412	M	72	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		28.08	24.59	28.88	MinION_V3	97.5	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819420
CAMPI413	M	74	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		23.99	23.07	25.37	MinION_V3	94	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819421
CAMPI414	M	83	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		18.79	18.02	19.92	MinION_V3	98.1	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819422
CAMPI415	F	81	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		21.07	20.44	21.08	MinION_V3	97.3	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819423
CAMPI416	M	89	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		21.04	20.35	21.88	MinION_V3	97.3	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819424
CAMPI417	M	85	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		23.19	22.03	24.17	MinION_V3	95.6	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819425
CAMPI418	M	69	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		22.16	21.81	22.85	MinION_V3	96.4	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819426
CAMPI419	M	82	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		24.46	23.55	25.29	MinION_V3	97	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819427
CAMPI427	M	74	Campinas	N	2021-08-02	nas_surve	NFS	unknown	unknown	unknown	unknown		19.28	17.95	20.64	MinION_V3	95	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819429
CAMPI537	F	42	Campinas	N	2021-08-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-06		17.49	18.53	18.07	MinION_V4.1	99.56	P.1.14	Gamma	EPI_ISL_17819534
CAMPI538	F	65	Campinas	NW	2021-08-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-07		24.72	23.60	25.56	MinION_V4.1	97.03	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819535
CAMPI671	F	51	Campinas	E	2021-08-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-09		20.55	21.17	25.13	MinION_V4.1	88.83	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819644
CAMPI672	F	22	Campinas	E	2021-08-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-10		18.63	19.01	23.44	MinION_V4.1	93.16	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819645
CAMPI715	F	53	Campinas	SW	2021-08-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-10		17.08	18.03	21.43	MinION_V4.1	98.88	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819683
CAMPI539	F	25	Campinas	E	2021-08-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-09		22.17	22.74	25.86	MinION_V4.1	98.12	AY.101	Delta	EPI_ISL_17819536
CAMPI542	F	36	Campinas	E	2021-08-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-11		15.57	15.84	19.78	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819537
CAMPI543	M	52	Campinas	E	2021-08-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-15		16.79	17.45	17.54	MinION_V4.1	99.56	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819538
CAMPI544	F	20	Campinas	S	2021-08-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-14		23.29	23.19	24.32	MinION_V4.1	97.86	P.1	Gamma	EPI_ISL_17819539
CAMPI545	F	55	Campinas	S	2021-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-13		18.53	19.36	23.03	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819540
CAMPI546	M	35	Campinas	S	2021-08-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-17		14.45	14.81	19.55	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819541

CAMPI719	F	68	Campinas	SW	2021-08-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-17		21.38	22.59	25.50	MinION_V4.1	95.48	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819685
CAMPI720	M	62	Campinas	S	2021-08-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-18		20.24	20.44	25.30	MinION_V4.1	96.42	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819686
CAMPI722	F	30	Campinas	SW	2021-08-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-21		21.47	22.31	22.75	MinION_V4.1	94.76	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819687
CAMPI723	M	82	Campinas	E	2021-08-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-23		19.18	17.75	24.00	MinION_V4.1	98.73	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819688
CAMPI724	M	65	Campinas	NW	2021-08-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-25		14.40	14.53	17.47	MinION_V4.1	96.22	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819689
CAMPI547	M	83	Campinas	S	2021-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-20		14.82	15.16	15.96	MinION_V4.1	99.56	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819542
CAMPI548	M	28	Campinas	E	2021-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-23		15.73	15.59	19.70	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819543
CAMPI549	F	41	Campinas	S	2021-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-24		15.28	15.19	18.66	MinION_V4.1	99.53	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819544
CAMPI550	F	38	Campinas	S	2021-08-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-26		15.57	15.60	19.84	MinION_V4.1	99.53	AY.101	Delta	EPI_ISL_17819545
CAMPI551	F	46	Campinas	E	2021-08-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-28		15.98	17.15	17.24	MinION_V4.1	99.56	P.1.7	Gamma	EPI_ISL_17819546
CAMPI552	M	36	Campinas	E	2021-08-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-08-30		21.59	20.93	25.97	MinION_V4.1	97.83	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819547
CAMPI726	F	38	Campinas	S	2021-09-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		14.85	15.70	17.89	MinION_V4.1	97.35	AY.34.1.1	Delta	
CAMPI553	F	52	Campinas	E	2021-09-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		15.66	16.66	19.08	MinION_V4.1	98.73	AY.99.1	Delta	EPI_ISL_17819548
CAMPI727	F	35	Campinas	E	2021-09-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		17.64	17.30	22.47	MinION_V4.1	98.89	AY.99.2	Delta	
CAMPI728	M	21	Campinas	N	2021-09-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		14.62	14.11	19.63	MinION_V4.1	95.57	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819690
CAMPI729	F	38	Campinas	S	2021-09-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		14.93	15.42	17.98	MinION_V4.1	98.08	AY.100	Delta	EPI_ISL_17819691
CAMPI730	F	64	Campinas	SW	2021-09-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		18.41	19.46	21.90	MinION_V4.1	71.35	AY.34.1.1	Delta	
CAMPI731	M	46	Campinas	N	2021-09-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		18.00	19.44	22.98	MinION_V4.1	77.36	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819692
CAMPI732	F	28	Campinas	E	2021-09-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	unknown		17.69	17.65	22.34	MinION_V4.1	92.17	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819693
CAMPI763	M	56	Campinas	SW	2021-09-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-09-19					MinION_V4.1	71.33	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819712
CAMPI764	M	78	Campinas	N	2021-09-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-09-28					MinION_V4.1	97.19	AY.122	Delta	EPI_ISL_17819713
CAMPI765	M	19	Campinas	N	2021-10-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-03		23.27		25.53	MinION_V4.1	97.28	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819714
CAMPI766	F	35	Campinas	NW	2021-10-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-02		20.67		22.51	MinION_V4.1	88.09	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819715
CAMPI767	F	29	Campinas	N	2021-10-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-01					MinION_V4.1	87.79	AY.46.3	Delta	EPI_ISL_17819716
CAMPI768	M	68	Campinas	N	2021-10-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-13		18.59	20.27	21.57	MinION_V4.1	98.88	AY.99.2	Delta	EPI_ISL_17819717
CAMPI769	F	32	Campinas	N	2021-10-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-19		17.49	17.90	20.86	MinION_V4.1	98.09	AY.43.1	Delta	EPI_ISL_17819718
CAMPI770	F	60	Campinas	N	2021-10-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-23		23.18	24.36	24.56	MinION_V4.1	91.48	AY.43.1	Delta	EPI_ISL_17819719
CAMPI752	F	38	Campinas	S	2022-01-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-07		23.11	23.08	22.37	MinION_V4.1	97.27	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819705
CAMPI747	F	29	Campinas	N	2022-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-09					MinION_V4.1	74.5	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819702
CAMPI734	F	35	Campinas	N	2022-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-24		16.25	15.82	16.83	MinION_V4.1	98.7	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819694
CAMPI749	F	30	Campinas	E	2022-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-11		27.59	27.57	26.90	MinION_V4.1	88.54	BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_17819703
CAMPI748	M	29	Campinas	N	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-12		25.97	25.52	25.55	MinION_V4.1	86.66	BA.1.1	Omicron	
CAMPI773	F	66	Campinas	NW	2022-01-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14					MinION_V4.1	74.38	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819720
CAMPI746	F	37	Campinas	SW	2022-01-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		16.46	11.38	14.12	MinION_V4.1	74.02	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819701
CAMPI740	F	48	Campinas	SW	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		24.83	23.61	24.80	MinION_V4.1	87.28	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819697
CAMPI750	F	24	Campinas	S	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		24.23	24.09	23.50	MinION_V4.1	90.61	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819704
CAMPI743	F	33	Campinas	NW	2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		28.26	28.31	27.78	MinION_V4.1	80.68	BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_17819698
CAMPI744	M	23	Campinas	N	2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-12-17		22.49	22.53	21.94	MinION_V4.1	87.62	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819699
CAMPI745	M	55	Campinas	N	2022-01-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-18		20.97	21.41	20.29	MinION_V4.1	98.65	BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_17819700
CAMPI777	F	27	Campinas	N	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		26.28	25.28	26.44	MinION_V4.1	97.92	BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_17819721
CAMPI754	F	24	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		24.52	24.14	25.55	MinION_V4.1	79.67	BA.1.14.1	Omicron	
CAMPI758	F	56	Campinas	S	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2025-01-29		26.08	24.60	26.13	MinION_V4.1	80.1	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819707
CAMPI737	F	43	Campinas	NW	2022-02-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-08		21.16	22.87	24.39	MinION_V4.1	94.65	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819696
CAMPI779	F	29	Campinas	E	2022-02-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-05		23.64	22.86	23.48	MinION_V4.1	97.15	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819722
CAMPI735	F	39	Campinas	E	2022-02-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-09		22.38	24.11	26.06	MinION_V4.1	95.5	BA.1	Omicron	EPI_ISL_17819695
CAMPI757	F	34	Piracicaba		2022-02-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-13		21.12	20.43	21.07	MinION_V4.1	90.52	BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_17819706
CAMPI802	F	43	Campinas	E	2020-11-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-06		26.60	27.59	28.66	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985741
CAMPI803	F	29	Campinas	E	2020-08-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-14		22.56	24.28	23.35	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985742
CAMPI804	F	20	Campinas	S	2020-12-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-10		23.20	23.12	26.19	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985743
CAMPI805	M	27	Campinas	E	2020-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-11		23.92	29.02	25.83	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985744
CAMPI806	F	31	Campinas	E	2020-11-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-07		21.22	21.22	23.75	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985745
CAMPI807	M	24	Campinas	E	2020-11-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-05		24.61	25.93	27.04	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985746
CAMPI808	F	34	Campinas	E	2020-11-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-11		20.73	20.69	22.83	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985747
CAMPI809	F	66	Campinas	E	2020-11-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-11		22.77	23.96	25.13	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985748
CAMPI810	M	24	Campinas	N	2020-11-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-15		21.91	23.00	24.35	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985749
CAMPI811	M	37	Campinas	E	2020-11-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-13		18.18	19.25	20.49	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985750
CAMPI812	F	32	Campinas	N	2020-11-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-18		22.91	23.83	24.01	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985751
CAMPI813	F	27	Campinas	S	2020-11-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-20		19.82	19.04	23.64	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985752
CAMPI814	M	54	Campinas	NW	2020-11-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-20		22.35	23.87	24.97	CovidSeq_V3		N.9		EPI_ISL_18985753
CAMPI815	F	63	Campinas	SW	2020-11-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-22		19.91	20.51	21.96	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985754
CAMPI816	M	31	Campinas	S	2020-12-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-28		19.94	19.82	21.93	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985755
CAMPI817	M	74	Campinas	N	2020-11-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-27		22.12	22.78	24.20	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985756
CAMPI818	M	37	Campinas	E	2020-12-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-27		25.56	25.15	27.11	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985757
CAMPI819	F	36	Campinas	SW	2020-12-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-30		27.55	25.23	26.18	CovidSeq_V3		N.9		EPI_ISL_18985758
CAMPI820	M	24	Campinas	N	2020-12-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-30		19.88	20.34	21.52	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985759
CAMPI821	F	24	Campinas	N	2020-12-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-30		19.95	19.86	22.96	CovidSeq_V3		N.9		EPI_ISL_18985760
CAMPI822	M	37	Campinas	S	2020-12-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-06		16.28	17.04	18.52	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985761
CAMPI823	M	20	Campinas	SW	2020-12-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-03		21.74	22.28	24.51	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985762
CAMPI824	F	55	Campinas	E	2020-12-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-04		20.89	22.14	22.94	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985763
CAMPI825	F	46	Campinas	E	2020-12-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-06		23.00	22.74	25.43	CovidSeq_V3		N.9		EPI_ISL_18985764
CAMPI826	F	31	Campinas	E	2020-12-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-06		20.82	21.16	23.10	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985765
CAMPI827	M	55	Campinas	SW	2020-12-10	COVIP	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		29.02	28.71	31.48	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985766
CAMPI828	F	54	Campinas	E	2020-12-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-11		18.37	19.72	21.68	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985767
CAMPI829	F	29	Campinas	E	2020-12-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-10		18.82	18.22	22.00	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985768
CAMPI830	F	48	Campinas	S	2020-12-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-12		20.85	22.30	23.79	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985769
CAMPI831	M	32	Campinas	E	2020-12-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-15		19.83	19.75	23.32	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985770
CAMPI832	F	31	Campinas	SW	2020-12-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-10		22.93	22.69	24.04	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985771
CAMPI833	M	30	Campinas	S	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-29		18.92	19.90	21.23	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985772
CAMPI834	M	44	Campinas	SW	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-23		21.50	22.86	24.75	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985773
CAMPI835	F	35	Campinas	E	2020-12-28	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		18.06	19.87	20.52	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985774
CAMPI836	F	59	Campinas	SW	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-25		18.00	19.40	21.22	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985775
CAMPI837	F	33	Campinas	N	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-16		16.09	17.79	18.53	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985776
CAMPI838	F	54	Campinas	NW	2020-12-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-18		19.30	20.50	21.48	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985777
CAMPI839	M	49	Campinas	N	2020-12-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-16		23.96	23.66	25.42	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985778
CAMPI840	F	30	Campinas	E	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-26		26.93	26.31	30.82	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985779
CAMPI841	F	54	Campinas	SW	2020-12-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-19		19.57	20.67	22.24	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985780
CAMPI842	F	44	Sumare		2020-04-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-26		22.36	22.87	24.34	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985781
CAMPI843	M	40	Campinas	NW	2020-12-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-21		21.56	22.80	24.57	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985782
CAMPI844	F	27	Campinas	S	2020-12-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-24		25.85	27.22	28.49	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985783
CAMPI845	M	23	Campinas	SW	2020-12-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-13		21.41	21.85	23.48	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985784
CAMPI846	F	34	Campinas	NW	2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		23.57	22.45	23.84	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985785
CAMPI847	M	62	Campinas	S	2022-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-07		25.29	23.06	22.68	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985786
CAMPI848	F	48	Campinas	S	2022-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-09		19.76	18.95	19.00	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985787
CAMPI851	F	17	Campinas	NW	2022-01-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-13		25.43	24.79	14.82	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985788
CAMPI852	F	38	Campinas	N	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		24.72	24.67	23.98	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985789
CAMPI853	F	unknown	Campinas	S	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		24.85	25.01	24.31	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985790
CAMPI856	F	26	Campinas	E	2022-02-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-14		26.68	25.80	26.06	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985791
CAMPI857	F	37	Campinas	SW	2021-02-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-02-10		16.48	17.99	18.72	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985792
CAMPI858	F	49	Campinas	E	2021-04-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-04-05		19.39	21.28	21.74	CovidSeq_V3		P.1	Gamma	EPI_ISL_18985793
CAMPI859	M	33	Campinas	E	2020-11-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-24		21.84	22.11	23.90	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985794
CAMPI860	F	54	Campinas	E	2021-07-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-07-07		19.23	19.05	20.62	CovidSeq_V3		P.1	Gamma	EPI_ISL_18985795
CAMPI861	F	39	Campinas	E	2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-18		22.66	21.70	23.64	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985796
CAMPI862	M	30	Campinas	E	2020-06-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-05		21.95			CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985797
CAMPI863	F	26	Campinas	E	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		25.11	24.91	24.48	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985798
CAMPI864	F	32	Campinas	N	2022-01-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		24.47	24.46	23.90	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985799
CAMPI865	F	55	Campinas	E	2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-19		23.68	24.08	25.93	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985800
CAMPI866	F	46	Sumare		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		25.42	24.88	25.49	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985801
CAMPI867	M	47	Campinas	NW	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		23.38	22.38	23.21	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985802
CAMPI868	M	21	Campinas	E	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-28		24.78	23.02	24.10	CovidSeq_V3		BA.1.1.18	Omicron	EPI_ISL_18985803
CAMPI869	F	24	Campinas	N	2021-03-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-03-01		16.76	18.89	18.66	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985804

CAMPI870	F	69	Campinas	N	2022-02-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-06		22.25	21.52	22.09	CovidSeq_V3		BA.1.17.2	Omicron	EPI_ISL_18985805
CAMPI871	F	42	Campinas	S	2022-02-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-18		22.77	21.90	22.92	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985806
CAMPI872	M	26	Campinas	N	2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-06		15.88	13.26	14.36	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985807
CAMPI873	F	29	Campinas	E	2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-04		13.99	13.73	14.23	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985808
CAMPI874	F	51	Campinas	E	2022-01-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released			16.14	13.94	12.62	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985809
CAMPI875	M	42	Campinas	NW	2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-05		17.09	19.34	17.17	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985810
CAMPI877	F	50	Campinas	N	2021-11-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-10-27		29.02	27.04	28.56	CovidSeq_V3		AY.34.1.1	Delta	EPI_ISL_18985811
CAMPI878	F	20	Campinas	N	2021-11-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-11-07		21.28	20.57	22.58	CovidSeq_V3		AY.43	Delta	EPI_ISL_18985812
CAMPI879	M	24	Campinas	S	2021-11-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic		28.81	26.30	29.77	CovidSeq_V3		AY.99.2	Delta	EPI_ISL_18985813
CAMPI880	M	21	Campinas	unknown	2021-11-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-11-16		20.13	19.63	22.43	CovidSeq_V3		AY.43.7	Delta	EPI_ISL_18985814
CAMPI881	F	21	Campinas	N	2021-11-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-11-14		20.86	19.76	23.93	CovidSeq_V3		AY.99.2	Delta	EPI_ISL_18985815
CAMPI882	F	31	Campinas	E	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-16		26.35	26.15	28.50	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985816
CAMPI883	F	45	Campinas	SW	2020-08-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-11		19.30	20.80	20.90	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985817
CAMPI884	F	60	Campinas	SW	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-14		27.00	27.30	28.10	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985818
CAMPI885	M	25	Campinas	N	2020-08-12	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-08-13		19.10	19.10	22.30	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985819
CAMPI886	F	29	Campinas	N	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-12		23.08	23.83	24.81	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985820
CAMPI887	M	36	Campinas	E	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-14		19.10	20.80	20.90	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985821
CAMPI888	M	40	Campinas	N	2020-08-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-18		17.14	17.63	18.65	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985822
CAMPI889	M	47	Campinas	S	2020-10-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-19		17.67	18.76	21.44	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985823
CAMPI890	F	32	Campinas	S	2020-08-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-10		19.20	20.20	21.70	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985824
CAMPI891	F	25	Campinas	N	2020-08-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-11		23.30	24.20	25.50	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985825
CAMPI892	F	42	Campinas	E	2020-08-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-12		17.50	18.60	19.50	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985826
CAMPI893	F	43	Campinas	S	2020-10-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-07		23.21	24.06	24.91	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985653
CAMPI894	M	27	Campinas	N	2020-10-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released			20.50	21.44	23.35	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985654
CAMPI895	M	49	Campinas	SW	2020-08-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-19		27.43	27.02	30.11	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985655
CAMPI896	F	43	Campinas	NW	2020-08-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-08		21.52	22.46	23.44	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985656
CAMPI897	M	27	Campinas	S	2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-04		27.04	28.30	28.69	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985657
CAMPI899	F	31	Campinas	E	2020-10-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-11		23.78	24.61	26.21	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985658
CAMPI900	F	66	Campinas	SW	2020-09-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-19		16.95	17.82	19.07	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985659
CAMPI901	F	38	Campinas	E	2020-11-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-09		24.75	25.23	26.87	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985660
CAMPI902	F	41	Campinas	SW	2020-11-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-11-10		20.43	20.94	22.52	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985661
CAMPI903	F	25	Campinas	N	2020-12-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-02		19.27	19.52	23.41	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985662
CAMPI904	F	39	Campinas	N	2020-08-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-10		25.88	24.38	27.17	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985663
CAMPI905	F	34	Campinas	E	2020-08-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-24		23.07	24.19	25.33	CovidSeq_V3		B.1		EPI_ISL_18985664
CAMPI906	F	61	Campinas	SW	2020-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-25		18.61	18.83	21.15	CovidSeq_V3		B.1		EPI_ISL_18985665
CAMPI907	F	37	Campinas	E	2020-08-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-23		21.90	22.70	23.60	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985666
CAMPI908	M	43	Campinas	NW	2020-08-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-27		30.03	30.65	33.58	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985667
CAMPI909	F	38	Campinas	S	2020-08-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-25		17.90	19.00	19.50	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985668
CAMPI910	F	35	Campinas	SW	2020-09-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-12		18.68	19.62	20.29	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985669
CAMPI911	F	52	Campinas	NW	2020-09-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-07		21.15	21.51	22.89	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985670
CAMPI912	F	37	Campinas	S	2020-09-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-09		19.76	20.53	21.46	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985671
CAMPI913	M	29	Campinas	E	2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-07		24.87	24.88	26.03	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985672
CAMPI914	F	53	Campinas	SW	2020-08-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-15		27.40	27.40	29.10	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985673
CAMPI915	F	37	Campinas	S	2020-09-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-30		22.40	22.75	23.88	CovidSeq_V3		B.1		EPI_ISL_18985674
CAMPI916	F	48	Campinas	S	2020-08-17	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-08-06		26.20	26.92	27.89	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985675
CAMPI917	F	37	Campinas	SW	2020-12-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-05		21.36	22.81	24.48	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985676
CAMPI918	M	23	Campinas	SW	2020-12-09	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-05		23.43	26.02	44.46	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985677
CAMPI919	F	37	Campinas	N	2020-12-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-12-02		30.25	29.24	29.71	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985678
CAMPI920	F	44	Campinas	N	2020-09-17	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-09-16		25.80	26.80	27.30	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985679
CAMPI921	F	48	Campinas	NW	2020-07-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-20		17.14	18.73	17.95	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985680
CAMPI922	M	63	Campinas	S	2020-07-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-14		25.39	26.65	27.26	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985681
CAMPI923	M	42	Campinas	E	2020-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-24		23.30	21.82	24.94	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985682
CAMPI924	F	48	Campinas	NW	2020-07-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-16		26.60	27.05	28.26	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985683
CAMPI925	F	36	Campinas	S	2020-10-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-15		21.60	22.43	23.36	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985684
CAMPI926	F	28	Campinas	N	2020-10-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-10-14		20.51	20.84	22.47	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985685
CAMPI927	F	38	Campinas	SW	2020-08-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-10		29.90	30.20	32.80	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985686
CAMPI928	F	52	Campinas	N	2020-08-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-10		19.82	24.36	22.19	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985687
CAMPI929	F	49	Campinas	S	2020-07-14	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		21.78	23.44	24.16	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985688
CAMPI930	F	52	Campinas	SW	2020-07-16	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		29.15	29.96	30.73	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985689
CAMPI931	F	51	Campinas	E	2020-07-16	HC	NFS	Yes	Mild	Released			22.14	23.09	23.30	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985690
CAMPI932	F	25	Campinas	S	2020-07-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-13		22.95	23.36	23.48	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985691
CAMPI933	M	64	Campinas	E	2020-07-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-13		18.00	19.00	19.00	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985692
CAMPI934	M	31	Campinas	unknown	2020-07-20	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		23.91	23.95	25.75	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985693
CAMPI935	M	73	Campinas	NW	2020-07-21	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		27.00	28.00	28.00	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985694
CAMPI936	M	34	Campinas	E	2022-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-10		21.77	21.80	21.16	CovidSeq_V3		B.1.1.529	Omicron	EPI_ISL_18985695
CAMPI937	F	22	Campinas	E	2020-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-22		27.07	27.13	29.23	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985696
CAMPI938	F	37	Campinas	S	2020-08-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-09		17.35	18.70	19.49	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985697
CAMPI939	M	26	Campinas	N	2020-09-23	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-20		27.37	28.07	29.82	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985698
CAMPI940	F	38	Campinas	E	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		22.51	22.37	21.18	CovidSeq_V3		B.1.1.529	Omicron	EPI_ISL_18985699
CAMPI942	F	29	Campinas	N	2020-08-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-18		21.27	20.89	23.09	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985700
CAMPI943	M	26	Campinas	N	2020-08-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-18		18.40	19.51	20.79	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985701
CAMPI944	F	47	Campinas	S	2020-08-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-11		24.48	25.85	27.87	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985702
CAMPI945	F	49	Campinas	S	2020-08-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-15		27.20	27.50	28.70	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985703
CAMPI946	F	56	Campinas	N	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-10		27.00	27.70	28.40	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985704
CAMPI947	F	29	Campinas	NW	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-13		27.80	28.50	28.90	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985705
CAMPI948	F	23	Campinas	E	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-12		27.83	28.61	30.13	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985706
CAMPI949	M	31	Campinas	N	2020-09-02	COVIP	NFS	No	Mild	Released	Asymptomatic					CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985707
CAMPI950	F	38	Campinas	S	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-29		28.61	29.20	30.41	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985708
CAMPI951	F	45	Campinas	N	2020-08-03	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-07-30		21.79	21.86	24.84	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985709
CAMPI952	M	42	Campinas	E	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		21.15	22.25	23.62	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985710
CAMPI953	M	53	Campinas	E	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		27.88	28.94	29.30	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985711
CAMPI954	F	35	Campinas	N	2020-09-23	CECOM	NFS	No	Asymptomatic	Released	Asymptomatic		29.26	29.74	31.82	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985712
CAMPI955	M	30	Campinas	N	2020-09-22	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-18		20.10	21.30	22.40	CovidSeq_V3		P.2	Zeta	EPI_ISL_18985713
CAMPI957	F	40	Campinas	E	2020-09-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-10		16.97	18.07	18.32	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985714
CAMPI958	F	47	Campinas	S	2020-09-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-22		36.69	27.45	29.52	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985715
CAMPI959	F	47	Campinas	N	2020-09-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-27		29.71	29.45	32.28	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985716
CAMPI960	F	59	Campinas	E	2020-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-23		29.32	29.93	31.23	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985717
CAMPI961	M	39	Campinas	E	2020-08-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-26		25.95	26.25	28.53	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985718
CAMPI962	F	27	Campinas	N	2020-08-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-11		18.59	19.73	20.93	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985719
CAMPI963	F	28	Campinas	E	2020-08-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-09		23.42	26.20	26.45	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985720
CAMPI964	M	33	Campinas	E	2020-08-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-09		22.90	24.23	24.32	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985721
CAMPI965	F	28	Campinas	N	2020-08-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-05		19.57	20.56	21.35	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985722
CAMPI966	M	41	Campinas	N	2020-08-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-03		25.80	26.40	27.80	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985723
CAMPI967	F	51	Campinas	S	2020-08-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-03		23.30	24.50	25.80	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985724
CAMPI968	F	43	Campinas	S	2020-08-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-04		27.60	28.40	29.30	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985725
CAMPI969	M	40	Campinas	N	2020-08-05	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-02		22.01	22.40	24.05	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985726
CAMPI970	M	29	Campinas	N	2020-08-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		19.00	20.00	22.00	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985727
CAMPI971	M	26	Campinas	N	2020-09-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-10		21.49	22.19	23.45	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985728
CAMPI972	F	40	Campinas	E	2020-09-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-10		25.00	25.85	27.04	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985729
CAMPI973	F	25	Jundiai		2020-09-20	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-16		29.31	29.56	30.98	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985730
CAMPI975	F	49	Campinas	SW	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		19.36	19.41	18.24	CovidSeq_V3		B.1.1.529	Omicron	EPI_ISL_18985731
CAMPI976	M	29	Campinas	E	2020-09-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-17		22.06	22.76	24.63	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985732
CAMPI977	F	50	Campinas	SW	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		25.72	25.53	25.07	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985733
CAMPI978	M	32	Campinas	E	2020-09-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-13		23.00	23.50	24.70	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985734
CAMPI980	M	27	Campinas	E	2020-09-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-12		23.26	23.19	23.13	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985735
CAMPI981	F	44	Campinas	E	2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		21.10	19.88	20.64	CovidSeq_V3		B.1.1.529	Omicron	EPI_ISL_18985736
CAMPI982	F	27	Campinas	N	2020-09-15	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-09-16		16.56	17.38	19.76	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985737
CAMPI986	F	46	Campinas	N	2022-02-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-15		24.33	23.24	23.64	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985738
CAMPI987	F	29	Campinas	E	2022-02-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-18		23.65	23.25	24.75	CovidSeq_V3		BA.1.18	Omicron	
CAMPI988	F	32	Campinas	SW	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		25.11	25.49	24.91	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985739

CAMPI989	M	27	Campinas	S	2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-03		13.35	12.66	11.87	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985740
CAMPI990	F	57	Hortolandia		2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-04		19.09	19.94	21.35	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985569
CAMPI991	F	31	Sumare		2020-08-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-09		21.44	21.79	22.47	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985570
CAMPI992	F	50	Hortolandia		2020-08-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-31		22.42	23.22	24.46	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985571
CAMPI993	M	22	Campinas	SW	2020-09-10	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-07		22.69	22.13	25.24	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985572
CAMPI994	F	46	Campinas	SW	2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-05		21.14	22.18	23.71	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985573
CAMPI995	F	61	Campinas	N	2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-09-05		23.09	23.61	25.23	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985574
CAMPI996	F	34	Campinas	E	2020-09-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-02		22.45	23.58	24.04	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985575
CAMPI997	M	34	Campinas	SW	2020-09-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-29		23.62	24.72	27.06	CovidSeq_V3		B.1		EPI_ISL_18985576
CAMPI998	M	36	Campinas	E	2020-08-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-28		18.30	18.70	20.30	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985577
CAMPI999	M	31	Campinas	N	2020-09-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-08-29		20.73	21.41	22.92	CovidSeq_V3		B.1.1		EPI_ISL_18985578
CAMPI1000	M	45	Campinas	NW	2020-07-03	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		27.90	29.30	30.30	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985579
CAMPI1001	F	31	Campinas	SW	2020-07-02	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-07-03		16.51	21.04	17.86	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985580
CAMPI1002	F	47	Campinas	S	2020-07-02	'IGILÂNCIA	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		18.96	20.19	20.75	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985581
CAMPI1003	F	64	Campinas	N	2020-07-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-29		22.84	27.03	24.59	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985582
CAMPI1004	F	30	Campinas	N	2020-07-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-28		23.75	24.73	25.82	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985583
CAMPI1005	F	21	Campinas	N	2020-07-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-28		18.64	19.06	20.84	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985584
CAMPI1006	M	72	Campinas	E	2020-07-01	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		25.14	26.37	28.11	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985585
CAMPI1007	F	35	Campinas	SW	2020-07-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-06-28		26.83	28.88	29.73	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985586
CAMPI1008	M	65	Campinas	E	2020-07-01	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		22.59	23.85	26.02	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985587
CAMPI1009	M	43	Campinas	NW	2020-07-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released			16.21	17.96	17.80	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985588
CAMPI1010	F	35	Campinas	NW	2020-07-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-09		21.67	23.48	23.83	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985589
CAMPI1011	F	38	Campinas	S	2020-07-14	CECOM	NFS	No	Mild	Released			22.75	24.56	25.07	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985590
CAMPI1013	M	50	Campinas	SW	2020-07-04	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		25.78	26.33	28.39	CovidSeq_V3		B.1.1.33		EPI_ISL_18985591
CAMPI1014	F	53	Campinas	N	2020-07-31	COVIP	NFS	No	Mild	Released	2020-07-28		18.42	19.54	21.32	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985592
CAMPI1015	M	55	Campinas	SW	2020-07-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-24		21.39	22.12	22.64	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985593
CAMPI1016	M	58	Campinas	SW	2020-07-30	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-27		20.33	22.47	22.92	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985594
CAMPI1017	M	45	Campinas	S	2020-07-29	CECOM	NFS	No	Mild	Released			19.27	22.61	20.60	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985595
CAMPI1018	F	39	Campinas	E	2020-07-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2020-07-24		25.81	26.44	27.32	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985596
CAMPI1019	M	30	Campinas	N	2022-01-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-02		23.26	22.26	21.77	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985597
CAMPI1020	F	36	Campinas	N	2022-01-06	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-04		25.53	25.11	24.03	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985598
CAMPI1021	M	37	Campinas	N	2022-01-11	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-09		23.30	22.48	21.76	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985599
CAMPI1022	F	44	Valinhos		2022-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-10		22.56	22.07	20.72	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985600
CAMPI1023	F	41	Campinas	SW	2022-01-12	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-08		22.23	22.19	21.70	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985601
CAMPI1024	F	34	Bauru		2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-12		20.92	18.78		CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985602
CAMPI1025	M	53	Campinas	N	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-11		15.35	14.00		CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985603
CAMPI1026	F	44	Campinas	NW	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-09		18.81	14.61		CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985604
CAMPI1027	F	40	Campinas	E	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-11		32.43	32.23	31.53	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985605
CAMPI1028	F	39	Paulinia		2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released			27.16	27.13	26.52	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985606
CAMPI1029	F	53	Campinas	E	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-11		23.54	22.81	21.27	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985607
CAMPI1031	F	39	Campinas	N	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-12		25.26	25.31	24.81	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985608
CAMPI1032	F	40	Campinas	SW	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-13		33.05	33.18	32.38	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985609
CAMPI1033	F	46	Sumare		2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-10		26.53	26.70	26.09	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985610
CAMPI1035	M	58	Campinas	S	2022-01-13	CECOM	NFS	No	Mild	Released			25.48	25.18	24.46	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985611
CAMPI1036	F	27	Hortolandia		2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		27.59	26.42	27.39	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985612
CAMPI1037	F	26	Hortolandia		2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01					CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985613
CAMPI1038	F	37	Hortolandia		2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		23.11	22.38	23.65	CovidSeq_V3		BA.1.17.2	Omicron	EPI_ISL_18985614
CAMPI1039	F	37	Paulinia		2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-02		23.14	21.96	22.85	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985615
CAMPI1040	F	45	Paulinia		2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01					CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985616
CAMPI1041	F	30	Hortolandia		2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		26.01	24.70	26.10	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985617
CAMPI1042	F	28	Campinas	E	2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		26.54	25.13	26.10	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985618
CAMPI1043	F	56	Campinas	S	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		26.08	24.60	26.13	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985619
CAMPI1044	M	46	Campinas	SW	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		22.25	20.67	21.96	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985620
CAMPI1045	F	49	Campinas	E	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		23.81	22.60	23.87	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985621
CAMPI1046	M	62	Campinas	E	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-28		19.49	18.54	19.54	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985622
CAMPI1047	F	37	Sumare		2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01					CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985623
CAMPI1048	F	43	Sumare		2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-04		19.97	19.75	19.04	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985624
CAMPI1050	F	50	Campinas	E	2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		23.33	21.87	21.74	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985625
CAMPI1051	F	42	Hortolandia		2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		27.13	26.11	26.65	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985626
CAMPI1052	M	23	Sumare		2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-06		20.52	20.12	19.60	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985627
CAMPI1053	F	61	Sumare		2022-02-03	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-02					CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985628
CAMPI1054	M	22	Campinas	N	2022-01-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-03		26.22	25.58	24.12	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985629
CAMPI1055	F	54	Sumare		2022-02-04	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-03					CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985630
CAMPI1056	M	31	Campinas	E	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		25.20	23.36	24.49	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985631
CAMPI1057	F	34	Campinas	E	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		25.22	24.11	24.67	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985632
CAMPI1058	F	32	Campinas	S	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		23.74	22.13	23.36	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985633
CAMPI1059	F	38	Sumare		2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		23.21	21.37	22.24	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985634
CAMPI1060	F	43	São Pedro		2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		26.94	25.66	26.44	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985635
CAMPI1061	F	47	Itapira		2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		21.09	19.66	20.60	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985636
CAMPI1062	M	29	Campinas	N	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		22.18	21.80	21.41	CovidSeq_V3		BA.1.17.2	Omicron	EPI_ISL_18985637
CAMPI1063	M	48	Paulinia		2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		21.70	21.08	20.87	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985638
CAMPI1064	F	26	Campinas	E	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		25.11	24.91	24.48	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985639
CAMPI1065	F	46	Sumare		2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		27.20	27.07	26.70	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985640
CAMPI1066	M	42	Hortolandia		2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		22.62	22.11	21.14	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985641
CAMPI1067	F	60	Campinas	S	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		20.46	20.12	19.61	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985642
CAMPI1068	F	55	Jundiai		2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-13		22.24	21.93	21.32	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985643
CAMPI1069	F	39	Campinas	E	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		22.94	22.78	22.08	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985644
CAMPI1070	M	32	Hortolandia		2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		27.44	27.11	26.44	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985645
CAMPI1071	F	43	Campinas	N	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		22.44	21.85	21.37	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985646
CAMPI1072	F	43	Campinas	E	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-13		28.00	27.65	27.28	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985647
CAMPI1073	F	28	Sumare		2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		18.98	18.71	18.45	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985648
CAMPI1074	M	50	Sumare		2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		26.66	26.42	26.13	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985649
CAMPI1075	F	22	Hortolandia		2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		20.62	20.39	20.13	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985650
CAMPI1076	M	27	Campinas	E	2020-07-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released			27.16	26.41	28.74	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985651
CAMPI1077	F	66	Campinas	N	2020-07-25	HC	NFS	Yes	unknown	unknown	unknown		25.97	27.33	27.49	CovidSeq_V3		B.1.1.28		EPI_ISL_18985652
CAMPI1078	F	38	Elias Fausto		2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		26.64	24.24	24.66	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985489
CAMPI1079	M	27	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-20		24.54	21.91	22.47	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985490
CAMPI1080	M	29	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-20		24.24	21.85	22.71	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985491
CAMPI1081	F	17	Campinas	SW	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released			23.24	20.96	21.37	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985492
CAMPI1082	F	50	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		22.00	19.56	19.95	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985493
CAMPI1083	F	35	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		20.82	18.54	19.05	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985494
CAMPI1084	F	58	Campinas	N	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		22.97	20.45	21.11	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985495
CAMPI1085	F	46	Campinas	S	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		19.57	17.46	17.75	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	
CAMPI1086	M	27	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		23.58	21.13	21.70	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985496
CAMPI1087	F	21	Campinas	N	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		24.81	22.30	23.10	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985497
CAMPI1088	F	50	Campinas	NW	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		23.77	21.55	22.21	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985498
CAMPI1089	F	29	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		24.85	22.48	23.39	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985499
CAMPI1090	M	33	Campinas	E	2022-01-24	CECOM	NFS	No	Mild	Released			23.25	20.65	21.47	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985500
CAMPI1091	F	55	Sumare		2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		28.15	26.73	27.52	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	
CAMPI1092	M	26	Campinas	E	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		29.78	28.77	30.08	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985501
CAMPI1093	F	48	Campinas	SW	2022-01-17	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		24.83	23.61	24.80	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985502
CAMPI1094	F	29	Paulinia		2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		21.39	20.30	21.38	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	
CAMPI1095	F	38	Mogi Mirim		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-26		26.95	25.89	27.24	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985503
CAMPI1096	F	62	Campinas	SW	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		27.43	26.37	27.94	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985504
CAMPI1097	M	45	Campinas	N	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		26.60	25.99	27.25	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985505
CAMPI1098	M	60	Campinas	SW	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		24.80	23.64	24.99	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985506
CAMPI1099	F	54	Campinas	SW	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		24.36	23.27	24.39	CovidSeq_V3		BA.1.17.2	Omicron	EPI_ISL_18985507
CAMPI1100	F	39	Campinas	S	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		27.26	26.34	27.57	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985508
CAMPI1101	M	40	Campinas	S	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		24.86	23.67	24.29	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985509
CAMPI1102	F	43	Campinas	NW	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		27.21	26.10	27.19	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	

CAMPI1103	F	34	Campinas	S	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		27.26	25.96	27.32	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985510
CAMPI1104	M	56	Campinas	N	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		26.79	26.22	27.11	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985511
CAMPI1105	F	53	Campinas	S	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		25.20	24.31	25.11	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985512
CAMPI1106	F	52	Campinas	E	2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		28.51	27.46	28.33	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985513
CAMPI1107	F	36	Pedreira		2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		24.14	23.24	24.39	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985514
CAMPI1108	F	49	Campinas	N	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2021-01-22		24.96	24.27	25.44	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985515
CAMPI1109	F	41	Campinas	N	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		25.20	24.42	24.84	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985516
CAMPI1110	F	58	Campinas	E	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		21.48	20.43	21.81	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985517
CAMPI1111	F	65	Campinas	SW	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		24.11	23.03	23.85	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985518
CAMPI1112	F	43	Mogi Mirim		2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		21.72	20.80	21.94	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985519
CAMPI1113	F	39	Campinas	S	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released			21.30	20.49	21.69	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985520
CAMPI1114	M	33	Campinas	E	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		21.00	20.01	21.04	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985521
CAMPI1115	F	25	Campinas	NW	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		27.07	26.30	27.39	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985522
CAMPI1116	F	43	Hortolandia		2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		27.64	27.10	27.81	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	
CAMPI1117	M	24	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		24.29	23.64	24.53	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985523
CAMPI1118	F	40	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		29.93	29.30	30.75	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985524
CAMPI1119	F	41	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-27		21.72	21.41	22.84	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985525
CAMPI1120	F	42	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		21.24	20.79	21.93	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985526
CAMPI1121	M	43	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		28.60	28.13	29.41	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985527
CAMPI1122	F	42	Hortolandia		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		21.10	20.42	21.59	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985528
CAMPI1123	M	22	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		26.86	26.46	26.88	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985529
CAMPI1124	M	56	Campinas	SW	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		23.37	23.28	23.57	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985530
CAMPI1125	F	21	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		23.18	22.60	23.80	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985531
CAMPI1126	F	23	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		23.54	23.38	24.00	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985532
CAMPI1127	M	34	Campinas	SW	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-26		25.17	24.43	25.32	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985533
CAMPI1128	F	34	Campinas	E	2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released			28.94	28.89	28.19	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985534
CAMPI1129	F	39	Campinas	NW	2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		24.17	24.24	23.67	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985535
CAMPI1130	F	43	Araras		2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		26.27	26.68	26.17	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985536
CAMPI1131	M	24	Campinas	N	2022-01-21	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		22.87	22.68	22.25	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985537
CAMPI1132	F	47	Sumare		2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		22.31	22.27	21.35	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985538
CAMPI1133	M	56	Campinas	SW	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		19.77	18.84	19.69	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985539
CAMPI1134	F	50	Campinas	N	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		24.74	23.71	24.68	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985540
CAMPI1135	F	53	Hortolandia		2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-21		27.10	26.22	27.40	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	
CAMPI1136	F	53	Campinas	N	2022-01-25	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22		24.68	23.49	24.34	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985541
CAMPI1137	F	30	Monte Mor		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		21.11	20.24	20.61	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985542
CAMPI1138	F	33	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		25.53	24.82	25.06	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985543
CAMPI1139	F	48	Sumare		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		23.26	22.22	23.19	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985544
CAMPI1140	M	40	Sumare		2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		24.85	23.39	23.24	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985545
CAMPI1141	F	42	Monte Mor		2022-01-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-27		27.44	26.72	27.74	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985546
CAMPI1142	F	32	Artur Nogueira		2022-01-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-27		18.14	17.23	17.09	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985547
CAMPI1143	F	41	Paulinia		2022-01-28	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-27		21.05	20.28	21.19	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985548
CAMPI1144	M	49	Campinas	N	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		22.13	21.46	22.12	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985549
CAMPI1145	F	66	Campinas	E	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-25		22.19	21.44	21.14	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985550
CAMPI1146	F	51	Campinas	S	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-23		30.68	29.75	30.21	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985551
CAMPI1147	F	44	Campinas	S	2022-01-27	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-24		26.48	25.74	26.48	CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985552
CAMPI1148	M	47	Sumare		2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		23.38	22.38	23.21	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985553
CAMPI1149	F	29	Campinas	N	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		23.76	22.89	23.73	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985554
CAMPI1150	F	39	Campinas	E	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		26.33	25.52	26.45	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985555
CAMPI1151	M	44	Campinas	E	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		19.75	19.28	20.16	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985556
CAMPI1152	F	55	Campinas	SW	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-28		26.87	25.43	26.07	CovidSeq_V3		BA.1.14.1	Omicron	EPI_ISL_18985557
CAMPI1153	F	38	Valinhos		2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		25.32	24.32	25.28	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985558
CAMPI1154	M	23	Campinas	N	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-28		25.31	24.43	25.56	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985559
CAMPI1155	M	63	Campinas	N	2022-02-02	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		22.39	20.85	21.78	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985560
CAMPI1156	M	29	Campinas	SW	2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		22.90	21.18	22.31	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985561
CAMPI1157	F	27	Campinas	N	2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-01		19.87			CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985562
CAMPI1158	M	28	Santos		2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		22.01	20.20	20.45	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985563
CAMPI1159	F	54	Campinas	N	2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		20.77	21.23	21.84	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985564
CAMPI1160	F	39	Mogi Mirim		2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-30		30.43	28.31	28.42	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985565
CAMPI1161	F	44	Campinas	E	2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		25.11	23.70	24.58	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985566
CAMPI1162	F	36	Campinas	E	2022-02-01	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-31		24.44	22.83	23.73	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985567
CAMPI1163	F	25	Campinas	unknown	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		25.05	24.87	24.30	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985568
CAMPI1164	F	39	Paulinia		2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		22.74	22.84	21.46	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985468
CAMPI1165	F	33	Hortolandia		2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-15		25.06	25.31	23.84	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985469
CAMPI1166	M	43	Hortolandia		2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-18		23.01	22.96	20.72	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985470
CAMPI1167	M	55	Campinas	E	2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		21.31	21.31	19.39	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985471
CAMPI1168	M	28	Campinas	N	2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-16		26.31	26.56	24.98	CovidSeq_V3		BA.1.14.2	Omicron	EPI_ISL_18985472
CAMPI1169	M	36	Campinas	E	2022-01-19	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		24.56	24.77	22.86	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985473
CAMPI1170	M	38	Hortolandia		2022-02-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-07					CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985474
CAMPI1171	F	51	Campinas	N	2022-01-31	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-29		21.38	20.76	21.53	CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985475
CAMPI1172	F	44	Campinas	E	2022-02-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-07		22.62	22.15	23.03	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985476
CAMPI1173	F	48	Campinas	SW	2022-02-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-04		27.27	26.26	26.65	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985477
CAMPI1174	F	41	Campinas	E	2022-02-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-06		23.00	22.78	23.60	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985478
CAMPI1175	M	25	São Carlos		2022-02-07	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-07		23.71	23.57	24.38	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985479
CAMPI1176	F	49	Campinas	SW	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-17		19.36	19.41	18.24	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985480
CAMPI1177	F	65	Campinas	SW	2022-01-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-14		26.52	26.96	25.97	CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985481
CAMPI1178	F	28	Campinas	E	2022-02-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-06		27.36	25.81	27.60	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985482
CAMPI1179	M	22	Campinas	N	2022-02-08	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-07					CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985483
CAMPI1180	F	47	Paulinia		2022-01-26	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-01-22					CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985484
CAMPI1182	M	57	Campinas	E	2022-02-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-15					CovidSeq_V3		BA.1.15	Omicron	EPI_ISL_18985485
CAMPI1183	F	42	Hortolandia		2022-02-16	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-15					CovidSeq_V3		BA.1.14	Omicron	EPI_ISL_18985486
CAMPI1184	F	32	Piracicaba		2022-02-15	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-14					CovidSeq_V3		BA.1	Omicron	EPI_ISL_18985487
CAMPI1185	F	61	Campinas	N	2022-02-18	CECOM	NFS	No	Mild	Released	2022-02-17		23.51	21.21	23.10	CovidSeq_V3		BA.1.1	Omicron	EPI_ISL_18985488

UNICAMP - CAMPUS CAMPINAS

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: UTILIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE CONTRA PROVA DE PACIENTES COM COVID-19 PARA A CARACTERIZAÇÃO DE FATORES DE RISCO ASSOCIADOS COM DOENÇA GRAVE.

Pesquisador: Jose Luiz Proenca Modena

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 31170720.3.0000.5404

Instituição Proponente: Instituto de Biologia - Unicamp

Patrocinador Principal: Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO
MINISTERIO DA CIENCIA, TECNOLOGIA E INOVACAO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.110.045

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos apresentados para apreciação ética e das informações inseridas pelo Pesquisador Responsável do estudo na Plataforma Brasil.

Introdução:

O Coronavírus SARS-CoV-2, cuja doença é chamada Covid-2, é um vírus emergente, detectado em Wuhan, Hubei, China, em 1 de dezembro de 2019, de fácil transmissão e alta taxa de mortalidade (próxima de 3%)1. Esse vírus é membro da família Coronaviridae, composta por vírus envelopados, de capsídeo helicoidal e genoma de RNA de polaridade positiva que infectam praticamente todas as espécies de vertebrados presentes no nosso planeta2. Essa família viral, pertencente a ordem Nidovirales e Reino Riboviria é composta por 49 espécies virais, distribuídas em 27 sub-gêneros, cinco gêneros e duas subfamílias2. O SARS-CoV-2 pertence ao gênero Betacoronavirus e se agrupa no ramo filogenético onde se encontra o SARS Coronavírus (do inglês Severe Acute Respiratory Syndrome), que causou uma epidemia de doença respiratória grave no leste da Ásia no começo dos anos 2000, e outros coronavírus de morcego.A circulação desse vírus tem impactado a economia mundial e gerado uma sobrecarga enorme nos sistemas de saúde dos países mais afetados, como China, Irã e Itália, decorrente da necessidade de isolamento dos doentes, alta taxa

de ocupação de Unidades de Terapia Intensiva (UTIs) e a alta velocidade com que gera casos graves. Isso se deve ao fato desse vírus possuir capacidade de se decuplicar (multiplicar o total de casos por 10x) a cada 7,2 dias – em média. Desse modo, dado o número atual de casos confirmados no Brasil (próximo de 1.500)4, estima-se que cerca de 30 mil casos de Covid-19 sejam confirmados no Brasil em apenas 15 dias. Ou seja, nesse cenário, é provável que em apenas 15 dias sejam necessários mais de 2.100 leitos hospitalares isolados e mais de 500 UTIs para o atendimento dos pacientes infectados no nosso país. As estratégias de controle são difíceis nesse momento, mas algumas medidas têm mostrado uma certa efetividade e minimizado o impacto da circulação desse vírus em algumas regiões afetadas, incluindo:1) A Proteção dos profissionais de saúde com equipamentos de proteção individual (EPIs), como utilização de macacões impermeáveis, uso de máscaras N95, luvas e viseiras de proteção.2) A rápida identificação dos sintomáticos, com rápida confirmação laboratorial e o rápido isolamento dos doentes.3) A identificação dos comunicantes e a sua inclusão em regime de quarentena.O Hospital de Clínicas (HC) da Unicamp, através do Grupo COVID 19 que gerencia a assistência hospitalar e o atendimento dos pacientes com suspeita ou confirmação de SARS-Cov2, irá aplicar a ferramenta de trabalho 3Is “ identify-isolate-inform”5. Essa medida foi inicialmente aplicada na epidemia de Ebola e foi adaptada para outras epidemias, como sarampo, MERS, caxumba, Zika, hepatite A, coqueluche e escabiose. As características da doença, como é a transmissão não são completamente conhecidas. Uma consideração importante é que a doença é contagiosa mesmo antes dos sintomas e hoje é conhecido que a doença é transmitida por pessoas assintomáticas6. A definição de caso promovida pelo CDC, WHO e Ministério da Saúde permite o manejo de um algoritmo efetivo para os pacientes. Após a identificação de paciente com sinais clínicos e o estabelecimento do risco de exposição, o paciente deve ser isolado imediatamente. Após o isolamento, o paciente deve ser notificado.A Unicamp é local de referência para atendimento médico na região de Campinas e um centro de excelência internacional em pesquisa e desenvolvimento. Como esperado, ela agiu prontamente no suporte aos casos suspeitos. O HC da Unicamp é um dos hospitais de referência para o atendimento de casos graves no Estado de São Paulo. Para atender a pandemia, o HC montou um comitê de crise que tem como gerente o Superintendente do HC, Prof. Antônio Gonçalves de Oliveira Filho. O HC desenvolveu um plano de contingência para atender os casos suspeito/confirmados de COVID19 (vide website do HC Unicamp).O comitê de crise do HC da tem como um de seus órgãos técnicos assessores, a Seção de Epidemiologia Hospitalar – SEH, coordenada pela Profa. Maria Luiza Moretti, e que é composta pelo Núcleo de Vigilância Epidemiológica, Comissão de Controle de Infecção Hospitalar e pelo

Centro de Referência de Imunobiológicos Especiais. A SEH é responsável, pela notificação e orientação de casos, orientação técnica sobre a infecção, incluindo os protocolos de profilaxia, diagnóstico e tratamento. A nível interno deve: Monitorar e acompanhar casos institucionais; acompanhar diariamente o perfil epidemiológico institucional; alimentar bases de dados de contingência institucional; prestar assessoria técnica ao comitê de crise. A nível externo deve: notificar casos suspeitos a vigilância sanitária. Diariamente, a SEH recebe os resultados dos exames diagnósticos de RT-PCR para que possa desempenhar suas ações específicas.A Unicamp também investiu na capacitação e segurança dos profissionais de saúde e forneceu estrutura laboratorial para testes de diagnóstico, que auxilie os laboratórios de referências a dar uma resposta rápida nessa situação de emergência. Os testes de detecção do SARS-CoV-2 estão sendo realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital das Clínicas da Unicamp (LPC) em parceria com o LEVE (Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes) do Instituto de Biologia, que, a partir de um isolado viral viável, cedido pelo Prof. Edison Durigon do ICB da USP, produziu os controles positivos utilizados para essa detecção. O LEVE, por ser o único espaço na Unicamp que possui estrutura laboratorial adequada para o manuseio de vírus altamente patogênicos e classificados como nível 3 de biossegurança, congregará o esforço de vários profissionais que pretendem desenvolver alternativas para o controle e diagnóstico de SARS-CoV-2. Esse laboratório atende todos os requisitos legais para proteção dos usuários e do meio ambiente, já que conta com controle de acesso por senha individual, entrada e saída independentes com portas intertravadas e espaço de paramentação, ambiente com pressão negativa onde o ar é filtrado em filtros HEPA apropriados antes da liberação no ambiente, divisórias seladas e com visores para visualização de quem está trabalhando, temperatura controlada, alarme de pânico, piso vinílico sem juntas e com canto arredondado, bancadas de inox de fácil limpeza, duas cabines de biossegurança classe IIA2 e um autoclave de barreira de duas portas. Todos os usuários do local trabalham com propé impermeável descartável, dois pares de luvas descartáveis, macacão impermeável descartável, máscara N95 descartável e viseiras de proteção descartáveis7.Desse modo, este projeto coordenado por mim e realizado no LEVE narra o esforço colaborativo feito por pesquisadores da Universidade de Campinas (Unicamp), LNBio, USP e Universidade de Oxford para desvendar mecanismos patogenéticos associados com os casos graves de Covid-19, além de desenvolver novas estratégias de diagnóstico que nos auxilie no combate dessa pandemia no Brasil. Resumidamente, nesse projeto iremos utilizar estratégias genômicas e outras alternativas recentes de diagnóstico para confirmação de casos duvidosos, testados no LPC, com intuito de reduzir a disseminação do vírus na comunidade do HC e em Campinas como um todo. Além disso,

a caracterização do genoma viral, da carga viral e de mediadores imunes e metabólicos presentes no sangue, plasma ou soro dos pacientes nos permitirão caracterizar fatores de risco que possam estar associados ao desenvolvimento de doença respiratória aguda grave. Hipótese:
A emergência do SARS-CoV-2 em dezembro de 2019 na China e em outras regiões em 2020 causou um grande impacto em saúde pública e na economia mundial em 2020. Esse vírus se dissemina rapidamente e possui uma alta taxa de mortalidade, principalmente associada com o desenvolvimento de pneumonia e falência respiratória grave. O impacto desta infecção no Brasil não é totalmente entendido, já que esse vírus foi introduzido em nosso país há aproximadamente um mês e o número de casos confirmados é, ainda restrito a aproximadamente mil e quinhentos casos, mas com crescimento diário vertiginoso. Entretanto, a grande mortalidade observada na Itália e a disponibilidade limitada de leitos para isolamento hospitalar no Brasil nos dá um vislumbre do grande impacto que esse vírus provavelmente terá na vida dos brasileiros. Deste modo, propostas que visem desenvolver métodos de diagnóstico e prognóstico que auxilie no manejo dos pacientes, assim como alternativas terapêuticas, são essenciais nesse momento e podem mitigar o impacto da epidemia do SARS-CoV-2 no Brasil. Assim, esse projeto pretende utilizar amostras residuais, coletadas para detecção local e como contraprova aos testes dos laboratórios de referência, para desenvolver novos métodos de diagnóstico, prognóstico e tratamento para SARS-CoV-2. Além disso, os achados trarão conhecimento sobre os mecanismos virais e fisiopatogênicos associados ao desenvolvimento de doença grave Covid-19, que podem nos trazer conhecimento científico e respostas rápidas para o enfrentamento de futuras epidemias causadas por coronavírus.
Metodologia Proposta:
Delineamento Experimental e Plano de Pesquisa: Nesse projeto analisaremos as variações genéticas presentes nos isolados de Covid-19 e alterações proteicas, metabólicas e de produção de mediadores inflamatórios em pacientes suspeitos de estarem infectados com SARS-CoV-2 e atendidos no Hospital da Clínicas da Unicamp, pedindo a dispensa de aplicação de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, dada a situação de emergência causada pela pandemia desse vírus. Vale destacar, que usaremos alíquotas de Swab nasofáringeo coletadas como contraprova e diagnóstico local no LPC. Nenhum tipo de espécime clínico adicional será obtido dos sujeitos incluídos no presente estudo.Metodologia detalhada: Brevemente, para a realização desse estudo, utilizaremos 1 mL de swab nasofaríngeo obtidos de pacientes suspeitos para Covid-19, incluindo casos positivos e negativos, conforme teste realizado no LPC. Vale destacar que o teste de detecção do SARS-CoV-2 foi padronizado no LPC com ajuda dos proponentes dessa pesquisa, que

ainda são responsáveis por produzir os controles positivos utilizados nos ensaios realizados no Laboratório de Patologia Clínica do HC. Esses swabs serão armazenados a -80oC no LPC até envio em gelo seco e condição apropriada de biossegurança ao Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes (LEVE) onde serão feitas as tentativas de isolamento e sequenciamento das variantes de SARS-CoV-2. Desenho do estudo: Estudo clínico-epidemiológico conduzido com amostras de contraprova armazenadas do LPC coletadas de pacientes internados no HC, CAISM e servidores atendidos no CECOM. O estudo será baseado na metodologia 3is – Identify-IsolateInform e não envolverá a coleta de espécimes clínicos adicionais que não seriam colhidos para diagnóstico da Covid-19 e de outros exames de rotina. O objetivo é incluir amostras de todos os suspeitos atendidos na Unicamp.População do estudo e critérios de inclusão e exclusão: Pacientes de ambos os sexos, com mais de 18 anos de idade, com infecção suspeita ou diagnosticada de Covid-19, que tenham síndrome do desconforto respiratório agudo, atendidos no HC, CAISM ou CECOM. Dada a situação de emergência e a sobrecarga do serviço médico durante a situação de pandemia e o fato de que não coletaremos espécimes clínicos adicionais, é solicitada a dispensa de termo de consentimento livre e esclarecido. Dados clínicos e demográficos: Dado o caráter epidemiológico e filogeográfico do estudo, alguns dados genéricos, que não permitam a identificação dos indivíduos, mas que permitam o estudo da história natural do vírus serão coletados a partir da ficha de exame e/ou do prontuário médico dos pacientes. Os seguintes dados serão coletados: (1) sexo, (2) idade, (3) município e bairro que reside, (4) necessidade de internação, (5) uso de unidade de terapia intensiva, (6) tempo de início de sintomas, (7) sintomas como febre, tosse e falta de ar, (8) Ct do primer E. Devido à limitação de espaço, o detalhamento das demais metodologias empregadas nesse projeto segue no corpo do próprio projeto. Tais metodologias serão: Isolamento Viral; RT-qPCR para determinação da carga viral de SARS-CoV-2; Sequenciamento dos variantes de SARS-CoV-2 e de outros vírus de importância médica; Conjuntos de dados, alinhamento e determinação do melhor modelo estatístico; Filogenia e Filogeografia; Análise proteômica; Análise metabolômica; Dosagem dos mediadores inflamatórios; Dosagem de hormônios séricos reguladores do metabolismo; Resposta de monócitos isolados de doadores saudáveis infectados com e tratados com inibidores de vias metabólicas e, finalmente, Perfil transcricional (RNASeq) e exoma.

Critério de Inclusão:

Pacientes de ambos os sexos, com mais de 18 anos de idade, com infecção suspeita ou diagnosticada de Covid-19, que tenham síndrome do desconforto respiratório agudo, atendidos no HC, CAISM ou CECOM.

Metodologia de Análise de Dados:
Considerando o espaço restrito, descreveremos sucintamente os métodos de análise. Para avaliar Circulação e diversidade genética:
(1) RT-qPCR para determinação da carga viral de SARS-CoV-2: Seguirá metodologia adaptada do protocolo de Charité, recomendada pela Organização Mundial de Saúde;
(2) Sequenciamento dos variantes de SARS-CoV-2 e de outros vírus de importância médica: O sequenciamento usará a plataforma MinION (PCR-MinION) para vírus de importância médica. Ainda, as informações clínicas e laboratoriais dos pacientes serão correlacionadas com o diagnóstico viral e avaliadas estatisticamente com os programas RStudio e GraphPad Prism; (3) Conjuntos de dados, alinhamento e determinação do melhor modelo estatístico: Os alinhamentos serão feitos com os programas MAFFT e Muscle, e os melhores modelos de substituição para análises filogenéticas em nucleotídeos ou aminoácidos, serão determinados pelos programas jModelTest 2, ou ProtTest 3, respectivamente;
(4) Filogenia e Filogeografia: as árvores filogenéticas serão construídas por métodos probabilísticos de máxima verossimilhança e/ou bayesianos, usando respectivamente os programas IQ-TREE e RevBayes;
(5) .Análise de recombinantes: Para identificar potenciais eventos de recombinação serão observados as topologias das árvores filogenéticas em conjunto com análises por métodos Bootscan, Geneconv, Chiamera, MaxChi e RDP, disponíveis no programa RDP4. Nas análises com o RDP4 utilizaremos alinhamentos de regiões codificantes completas. Para a Caracterização de biomarcadores que possam ser usados para diagnósticos e prognóstico de pacientes infectados com Covid-19): Análise proteômica: Proteomas serão analisados em MSE (dados independentes) e quantificado de maneira relativa usando uma abordagem sem marcação (“label-free manner”). Proteínas diferencialmente expressas serão analisados in sílico utilizando ferramentas de biologia de sistemas como o Ingenuity Pathway Analysis (IPA) e o poder preditivo das proteínas do soro será determinado utilizando ferramentas estatísticas como o PLS-DA; Análise metabolômica: Para esse ensaio, todas as análises serão realizadas utilizando a plataforma online MetaboAnalyst 3. Ainda, usaremos o HMDB versão 3.6 (Human Metabolome Database - www.hmdb.ca), METLIN (Scripps Center for Metabolomics, EUA), bem como o banco de dados on-line Lipid MAPS (Scripps Center for Metabolomics, EUA) serão consultados para eleger o marcador mais adequado. Dosagem dos mediadores inflamatórios e de hormônios séricos reguladores do metabolismo: Os resultados serão obtidos usando o sistema Bio-Plex 200 (Bio-Rad) com o programa computacional Luminex xPONENT (versão 3.1 ou superior), baseado em curvas padrões plotadas através de um

ajuste de curva logística de 5 parâmetros. Padrões encontrados abaixo do limite de detecção serão excluídos das análises subsequentes; Perfil transcricional (RNA-Seq) e exoma: Para detectar genes diferencialmente expressos (DEGs) usaremos o pacote Bioconductor/R-project com DESeq2 para calcular valores de p ajustados por FDR. Por fim, usaremos a Ingenuity Pathway Analysis (IPA) para categorizar funcionalmente genes diferencialmente expressos. Também, realizaremos análises do exoma para determinar possível polimorfismo genético associado a casos graves por SARS-CoV2. Desfecho Primário: Busca-se o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico, bem como prognóstico e tratamento para SARS-CoV-2. Ainda, os achados trarão conhecimento sobre os mecanismos virais e fisiopatogênicos associados ao desenvolvimento de doença grave Covid-19.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Esse projeto buscará desenvolver novos métodos de diagnóstico, prognóstico e tratamento para SARS-CoV -2. Ainda, os achados trarão conhecimento sobre os mecanismos virais e fisiopatogênicos associados ao desenvolvimento de doença grave Covid-19.

Objetivo Secundário:

Objetivos específicos:1. Testar outras metodologias disponíveis para diagnóstico de SARS-COV-2, com intuito de resolver casos duvidosos e indicar as que poderiam fazer parte do menu permanente da instituição;2. Isolar em cultura de células variantes de SARS-CoV-2 de indivíduos com diagnóstico positivo para SARS-CoV-2, de acordo com os ensaios moleculares de detecção realizados no LPC; 3. Determinar a carga viral do SARS -CoV-2 nos pacientes atendidos em Campinas4. Sequenciar o genoma completo das cepas do SARS-CoV-2;5. Analisar a relação filogenética do SARS-CoV-2 em circulação na região de Campinas6. Detectar variantes do SARS-CoV-2 associado aos casos de óbitos;7. Analisar a presença de co -infecções virais nos pacientes com SARS-CoV-2 por sequenciamento de nova geração;8. Avaliar a presença de outros vírus respiratórios em pacientes negativos para Covid-199. Analisar e comparar o metaboloma sérico dos três grupos de pacientes incluídos no estudo (Pacientes suspeitos, mas negativos para Covid-19; Pacientes infectados com SARS-CoV-2, que necessitaram de isolamento, mas não de tratamento intensivo; Pacientes que necessitaram de tratamento intensivo);10. Analisar e comparar o metaboloma sérico dos três grupos de pacientes incluídos no estudo (Pacientes suspeitos, mas negativos para Covid-19; Pacientes infectados com SARS-CoV-2, que necessitaram de isolamento, mas não de tratamento intensivo; Pacientes que necessitaram de tratamento intensivo); 11. Analisar e comparar proteomas e (dependendo da disponibilidade de amostras sub-proteomas) do soro provindos dos três grupos experimentais incluídos no estudo;12. Analisar e comparar os

mediadores inflamatórios, endoteliais e metabólicos liberados no soro dos três grupos de pacientes incluídos no estudo após dosagem por imunoensaio multiplex (Luminex); 13. Identificar biomarcadores proteicos e/ou lipídicos candidatos para diagnóstico precoce (e até de predisposição) no soro dos pacientes infectados com SARS-CoV-2;14. Determinar o perfil transcricional (RNA-Seq) e o exoma dos três grupos de pacientes infectados com SARS-CoV-2 incluídos nesse estudo;15. Caracterizar o perfil de infecção e de expressão em diferentes células imunológicas, como monócitos e linfócitos;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não obstante, os riscos potenciais, envolvidos em pesquisas com seres humanos admite-se que na presente pesquisa estes são superados pelos benefícios. Este estudo vislumbra a possibilidade de geração de conhecimento em tema (viroses emergentes e Covid-19) de evidente impacto individual e coletivo que emerge em nível nacional e global. Os riscos potenciais são aqueles inerentes a própria evolução das doenças pesquisadas e das coletas realizadas para diagnóstico, visto que nenhuma intervenção terapêutica adicional ou método diagnóstico invasivo adicional será utilizado além daqueles previstos para o seguimento clínico padrão do sujeito. Os pesquisadores e a instituição assumem a responsabilidade de dar assistência integral às complicações e danos decorrentes dos riscos previstos. Os pesquisadores se comprometem a suspender a pesquisa imediatamente ao perceber algum risco ou danos à saúde ou imagem do sujeito participante da pesquisa. O Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp será informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do presente estudo. Como estamos solicitando dispensa de termo de consentimento livre e esclarecido, eles não são apresentados nos apêndices desse projeto.

Benefícios:

Como citado no item anterior, este estudo vislumbra a possibilidade de geração de conhecimento em tema (viroses emergentes e Covid-19) de evidente impacto individual e coletivo que emerge em nível nacional e global. Conhecimento este que poderá resultar em novas estratégias terapêutica e de diagnóstico que poderão auxiliar no combate dessa pandemia no Brasil.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Este protocolo se refere ao Projeto de Pesquisa intitulado "UTILIZAÇÃO DE AMOSTRAS DE CONTRA PROVA DE PACIENTES COM COVID-19 PARA A CARACTERIZAÇÃO DE FATORES DE RISCO ASSOCIADOS COM DOENÇA GRAVE.", cujo Pesquisador responsável é Jose Luiz Proenca Modena com as colaborações dos pesquisadores participantes:

Instituto de Biologia:
Prof. Dr. José Luiz Proença Módena – IB: Unicamp;
Prof. Dr. Clarice Weis Arns – IB: Unicamp;
Prof. Dr. Fabio Trindade Maranhão Costa – IB: Unicamp;
Prof. Dr. Daniel Martins de Souza – IB: Unicamp;
Prof. Dr. Marco Aurélio R. Vinolo – IB: Unicamp;
Prof. Dr. Marcelo Alves da Silva Mori – IB; Unicamp;
Prof. Dr. Alessandro dos Santos Farias – IB; Unicamp:
Prof. Dr. Pedro M. M. Vieira – IB: Unicamp;
Prof. Dr. André Schwambach Vieira - IB: Unicamp;
Prof. Dr. Henrique Marques Barbosa de Souza – IB: Unicamp;
Camila Simeoni - IB: Unicamp;
Msc. Daniel de Augusto de Toledo Teixeira - IB: Unicamp;
Julia Forato - IB: Unicamp;
MSc. Gabriela Fabiano de Souza - IB: Unicamp;
Karina Bispo dos Santos – IB: Unicamp;
Msc. Mariene Ribeiro Amorim – IB: Unicamp;
Dr. Matheus Martini – IB: Unicamp;
MSc. Stéfine Primon Muraro - IB: Unicamp;
Dr. Carla Judice – IB: Unicamp;
Dr. Tatyana Almeida Tavella – IB: Unicamp;
Dr. Gustavo Henrique Martins Ferreira de Souza - IB: Unicamp;
Ana Paula de Moraes - IB: Unicamp;
Roberta Varione Segismundo - IB: Unicamp;
Laís Santos Rizotto - IB: Unicamp;
Msc. Patrícia Brito Rodrigues – IB: Unicamp;
Arilson Bernardo dos Santos Pereira Gomes – IB: Unicamp;
Msc. Gustavo Gastão Davanzo - IB:Unicamp;
Msc. Aline Vieira – IB: Unicamp;
Cynthia Mara Pereira Bezerra – IB: Unicamp;

Faculdade de Ciências Médicas:
Profa. Dra. Maria Luiza Moretti – FCM: Unicamp;

Profa. Mariangela Ribeiro Resende – FCM Unicamp
Prof. Plínio Trabasso – FCM Unicamp
Dr. Luis Gustavo de Oliveira Cardoso – Hospital de Clínicas Unicamp
Prof. Dr. Luis Felipe Bachur - Hospital de Clínicas Unicamp
Profa. Dra. Elisa Mendes -Hospital de Clínicas - Unicamp
Prof. Dr. Rodrigo Nogueira Angerami - Hospital de Clínicas Unicamp;
Profa. Dra. Márcia Teixeira Garcia - Hospital de Clínicas Unicamp;
Prof. Dr. Magnun Nueldo Nunes dos Santos – FCM: Unicamp
Profa. Dra. Angélica Zaninelli Schreiber – FCM: Unicamp;
Profa. Dra. Ana Lúcia Roscani Calusni – FCM: Unicamp
Profa. Dra. Cristina Cobra – FCM: Unicamp
Profa. Dra. Célia Regina Garlip – FCM: Unicamp
Dra. Carolina Carvalho Ribeiro do Vale – FCM: Unicamp
Dra. Tânia Regina Zaccariotto – FCM: Unicamp
Dra. Gisele Audrei Pedroso – FCM: Unicamp
Dra. Kamila Cristina Silva Krywacz – FCM: Unicamp
Dr. Emerson Salvador de Souza Franca – FCM: Unicamp
Dra. Bárbara Fonseca Nogueira de Carvalho – FCM: Unicamp
Dra Rosa Helena Francisco Marques Nobres – FCM: Unicamp
Dra Michelle Bertholin de Freitas – FCM: Unicamp
Dra. Jessyka Farrah Fernandes – FCM: Unicamp
Profª Drª Maria Rita Donalisio Cordeiro – FCM: Unicamp e DEVISA
Profª Drª Andrea Bruno Von Zuben – FCM: Unicamp e DEVISA
Rodrigo Bastos Mesquita – FCM: Unicamp;
Dra. Patricia Asfora Falabella Leme – CECOM: Unicamp;
Rose Clélia Grion Trevisane – CECOM: Unicamp;
Rogério Terra do Espírito Santo – CECOM: Unicamp;
Dra. Tâmara Maria Nieri – CECOM: Unicamp;
Luciane da Silva Antunes – CECOM: Unicamp;
Dr. Antônio Carlos Gomes de Barros Júnior – CECOM: Unicamp;
Externos à Unicamp:
Dr. William Marciel de Souza – FMRP: USP
Prof. Dr. Nuno Faria – University of Oxford (Estrangeiro)

A pesquisa foi enquadrada nas Áreas " Ciências Biológicas" e " Ciências da Saúde" e a Instituição Proponente é o Instituto de Biologia da UNICAMP. Segundo as Informações Básicas do Projeto, a pesquisa tem orçamento estimado em R$ 300.000,00, com apoio financeiro FAPESP e do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação e o cronograma apresentado contempla início do estudo para 04/05/2020, com término em 04/05/2022. Os pesquisadores solicitam a dispensa do TCLE e propõe utilizar espécimes clínicos (swab nasofaríngeo, soro e sangue total congelado) já utilizados no diagnóstico e outros exames de rotina e armazenados no Laboratório de Patologia Clínica do HC de 50 pacientes suspeitos, mas Covid19 negativos; 50 Covid19 positivos, mas sem tratamento intensivo e 50 Covid19 positivos e em tratamento intensivo.

Esta versão trata-se de uma emenda que visa solicitar que no parecer consubstanciado emitido desta emenda ao projeto, seja mencionado que a aluna de doutorado do Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular do Instituto de Biologia, Mariene Ribeiro Amorim, faz parte da equipe de pesquisa do projeto intitulado “Utilização de Amostras de Contra Prova de Pacientes com Covid-19 para a Caracterização de Fatores de Risco Associados com Doença Grave.”, sob o CAAE de nº 31170720.3.0000.5404.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos:

1-Folha de rosto: "Diretor_folhaDeRosto_29abril2020.pdf 29/04/2020 14:54:57";

2-Projeto detalhado: "COVID19_15_05_2020.docx 18/05/2020 10:33:29";

3-Informações Básicas do projeto: "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547610.pdf 18/05/2020 10:37:18";

4-TCLE: "TCLE_COVI19_Modena.docx 18/05/2020 10:34:26";

5-Regulamento do Biorreposiyório: "biorrepositorio_Covid19_JLPM.docx 18/05/2020 10:35:26";

6-Outros: "DocumentoJLPM.jpeg 29/04/2020 14:55:47"; "Carta_resposta_CEP.docx 18/05/2020 10:36:03"

Recomendações:

A Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep), do Conselho Nacional de Saúde (CNS) orienta a adoção das diretrizes do Ministério da Saúde (MS) decorrentes da pandemia causada pelo Coronavírus SARS-CoV-2 (Covid-19), com o objetivo de minimizar os potenciais riscos à saúde e a integridade dos participantes de pesquisas e pesquisadores.

De acordo com carta circular da CONEP intitulada “ORIENTAÇÕES PARA CONDUÇÃO DE PESQUISAS E ATIVIDADE DOS CEP DURANTE A PANDEMIA PROVOCADA PELO CORONAVÍRUS SARS-COV-2 (COVID-19)” publicada em 09/05/2020, referente ao item II. “Orientações para Pesquisadores”:

- Aconselha-se a adoção de medidas para a prevenção e gerenciamento de todas as atividades de pesquisa, garantindo-se as ações primordiais à saúde, minimizando prejuízos e potenciais riscos, além de prover cuidado e preservar a integridade e assistência dos participantes e da equipe de pesquisa.
- Em observância às dificuldades operacionais decorrentes de todas as medidas impostas pela pandemia do SARS-CoV-2 (COVID- 19), é necessário zelar pelo melhor interesse do participante da pesquisa, mantendo-o informado sobre as modificações do protocolo de pesquisa que possam afetá-lo, principalmente se houver ajuste na condução do estudo, cronograma ou plano de trabalho.
- Caso sejam necessários a suspensão, interrupção ou o cancelamento da pesquisa, em decorrência dos riscos imprevisíveis aos participantes da pesquisa, por causas diretas ou indiretas, caberá aos investigadores a submissão de notificação para apreciação do Sistema CEP/Conep.
- Nos casos de ensaios clínicos, é permitida, excepcionalmente, a tramitação de emendas concomitantes à implementação de modificações/alterações no protocolo de pesquisa, visando à segurança do participante da pesquisa, assim como dos demais envolvidos no contexto da pesquisa, evitando-se, ainda, quando aplicável, a interrupção no tratamento dos participantes da pesquisa. Eventualmente, na necessidade de modificar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), o pesquisador deverá proceder com o novo consentimento, o mais breve possível.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O Comitê de Ética em Pesquisa da Unicamp, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação desta emenda, mas recomenda que seja realizada uma nova emenda para inserir no documento Informações Básicas do Projeto todos os nomes dos pesquisadores que compõem a equipe de pesquisa que está contemplada no projeto detalhado.

Considerações Finais a critério do CEP:

- O participante da pesquisa deve receber uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido,

na íntegra, por ele assinado (quando aplicável).

- O participante da pesquisa tem a liberdade de recusar-se a participar ou de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma e sem prejuízo ao seu cuidado (quando aplicável).

- O pesquisador deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado. Se o pesquisador considerar a descontinuação do estudo, esta deve ser justificada e somente ser realizada após análise das razões da descontinuidade pelo CEP que o aprovou. O pesquisador deve aguardar o parecer do CEP quanto à descontinuação, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao participante ou quando constatar a superioridade de uma estratégia diagnóstica ou terapêutica oferecida a um dos grupos da pesquisa, isto é, somente em caso de necessidade de ação imediata com intuito de proteger os participantes.

- O CEP deve ser informado de todos os efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo. É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido (mesmo que tenha sido em outro centro) e enviar notificação ao CEP e à Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA – junto com seu posicionamento.

- Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas e aguardando a aprovação do CEP para continuidade da pesquisa. Em caso de projetos do Grupo I ou II apresentados anteriormente à ANVISA, o pesquisador ou patrocinador deve enviá-las também à mesma, junto com o parecer aprovatório do CEP, para serem juntadas ao protocolo inicial.

- Relatórios parciais e final devem ser apresentados ao CEP, inicialmente seis meses após a data deste parecer de aprovação e ao término do estudo.

-Lembramos que segundo a Resolução 466/2012 , item XI.2 letra e, “cabe ao pesquisador apresentar dados solicitados pelo CEP ou pela CONEP a qualquer momento”.

-O pesquisador deve manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1856545_E2.pdf	09/11/2021 14:44:58		Aceito
Declaração de Pesquisadores	declaracaoemenda_09112021.pdf	09/11/2021 14:44:09	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Outros	Projeto_detalhado_emenda.docx	20/04/2021 16:43:04	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Outros	Carta_CEP_Emenda_justificativas.docx	20/04/2021 16:39:59	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Outros	Carta_resposta_CEP.docx	18/05/2020 10:36:03	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	biorrepositorio_Covid19_JLPM.docx	18/05/2020 10:35:26	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_COVI19_Modena.docx	18/05/2020 10:34:26	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID19_15_05_2020.docx	18/05/2020 10:33:29	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Outros	DocumentoJLPM.jpeg	29/04/2020 14:55:47	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito
Folha de Rosto	Diretor_folhaDeRosto_29abril2020.pdf	29/04/2020 14:54:57	Jose Luiz Proenca Modena	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

CAMPINAS, 17 de Novembro de 2021

Assinado por:
Renata Maria dos Santos Celeghini
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Tessália Vieira de Camargo, 126, 1° andar do Prédio I da Faculdade de Ciências Médicas
Bairro: Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887
UF: SP **Município:** CAMPINAS
Telefone: (19)3521-8936 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@unicamp.br

Declaração

As cópias de artigos de minha autoria ou de minha co-autoria, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas ou anais de congressos sujeitos a arbitragem, que constam da minha Dissertação/Tese de Mestrado/Doutorado, intitulada **ESTUDO GENÔMICO E EPIDEMIOLÓGICO DO SARS-COV-2 EM CAMPINAS, BRASIL, COMO ESTRATÉGIA PARA VIGILÂNCIA IMUNOLÓGICA, CLÍNICA E EPIDEMIOLÓGICA DURANTE A PANDEMIA DA COVID-19**, não infringem os dispositivos da Lei n.° 9.610/98, nem o direito autoral de qualquer editora.

Campinas, 12 de abril de 2024

Assinatura : _____

Nome do(a) autor(a): **Mariene Ribeiro Amorim**

RG n.° 1150291923

gov.br Documento assinado digitalmente
JOSE LUIZ PROENCA MODENA
Data: 12/04/2024 18:54:58-0300
Verifique em https://validar.iti.gov.br

Assinatura : _____

Nome do(a) orientador(a): **José Luiz Proença Módena**

RG n.° 32744098

Gmail Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>

Fwd: EID grants your request for permission to include first author Journal Article in PhD Thesis

José Luiz Proença Modena <jlmodena@unicamp.br> 30 de novembro de 2023 às 14:56
Para: Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>

---------- Forwarded message ---------
De: **Drotman, Peter (CDC/NCEZID/OD)** <dpd1@cdc.gov>
Date: seg., 13 de nov. de 2023 às 12:58
Subject: EID grants your request for permission to include first author Journal Article in PhD Thesis
To: jlmodena@unicamp.br <jlmodena@unicamp.br>
Cc: EID Editor (CDC) <eideditor@cdc.gov>

Thank you for your inquiry regarding permission to reproduce material originally published in *Emerging Infectious Diseases*.

We routinely grant such permission at no charge as we do in this instance. The reproduced material should contain a full formal citation to EID and include a link if possible.

Congratulations on the completion of your thesis. We wish you success in your future research.

D. Peter Drotman, MD, MPH
Editor-in-Chief
Emerging Infectious Diseases
http://wwwnc.cdc.gov/eid/

From: Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>
Sent: Friday, November 10, 2023 8:15 AM
To: EID Editor (CDC) <eideditor@cdc.gov>
Cc: José Luiz Proença Modena <jlmodena@unicamp.br>
Subject: Request for permission to include first author Journal Article in PhD Thesis

Dear Editor,

I hope this email finds you well. My name is Mariene R. Amorim, and I am first author of the article titled *Respiratory Viral Shedding in Healthcare Workers Reinfected with SARS-CoV-2, Brazil, 2020 (*DOI: 10.3201/eid2706.210558), published in *Emerging Infectious Disease*. This article presented the results of one chapter of my PhD thesis conducted at Universidade Estadual de Campinas, in Brazil, under the supervision of Prof. José Luiz Proença Módena. I am seeking an official document from the editorial office confirming that the journal allows the attachment of the article in my thesis as a result of the presented chapter.

I kindly request your assistance in providing a formal permission letter or any relevant documentation affirming the journal's consent for the inclusion of my article in my PhD thesis, if possible. It is something requested by my university's graduation program. I am more than willing to provide any additional information or complete any necessary forms. Your cooperation in this matter is greatly appreciated.

Thank you for your time and consideration.

Sincerely,

Mariene R. Amorim

--

Mariene Ribeiro Amorim

Laboratório de Estudos de Vírus Emergentes
Departamento de Genética e Evolução, Microbiologia e Imunologia
Instituto de Biologia - Unicamp

Tel: +5575991336480

Gmail

Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>

Re: Request for permission to include first author Journal Article in PhD [231110-033547]

Permissions Helpdesk <permissionshelpdesk@elsevier.com> 14 de novembro de 2023 às 09:17
Responder a: Permissions Helpdesk <permissionshelpdesk@elsevier.com>
Para: mariene.ramorim@gmail.com

ELSEVIER

Dear Mariene R. Amorim,

Thank you so much for contacting us.

Please note that, as one of the authors of this article, you retain the right to reuse it in your thesis/dissertation. You do not require formal permission to do so. You are permitted to post this Elsevier article online if it is embedded within your thesis subject to proper acknowledgment;

Our preferred acknowledgement wording will be:

Example: "This article/chapter was published in Publication title, Vol number, Author(s), Title of article, Page Nos, Copyright Elsevier (or appropriate Society name) (Year)."

All the best for your thesis submission!

Kind regards,

Kaveri Thakuria

Senior Copyrights Coordinator

ELSEVIER | HCM - Health Content Management

Visit Elsevier Permissions

From: Administrator
Date: Friday, November 10, 2023 06:33 PM GMT

Dear Customer

Thank you for contacting Elsevier's Permissions Helpdesk.

This is an automated acknowledgement to confirm we have received your query. Ticket number 231110-033547 has been opened on your behalf and we aim to respond within two business days.

Regards,

Permissions Helpdesk

From: Mariene R. Amorim
Date: Friday, November 10, 2023 06:33 PM GMT

I am first author in the article titled Neutralisation of SARS-CoV-2 lineage P.1 by antibodies elicited through natural SARS-CoV-2 infection or vaccination with an inactivated SARS-CoV-2 vaccine: an immunological study (DOI: 10.1016/S2666-5247(21)00129-4), published in The Lancet Microbe, 2021. This article presented the results of one chapter of my PhD thesis conducted at Universidade Estadual de Campinas, in Brazil, under the supervision of Prof. José Luiz Proença Módena. I am seeking an official document from the editorial office confirming that the journal allows the attachment of the article in my thesis as a result of the presented chapter, if possible.

I kindly request your assistance in providing a formal permission letter or any relevant documentation affirming the journal's consent for the inclusion of this article in my PhD thesis. It is something requested by my university's graduation program. I am more than willing to provide any additional information or complete any necessary forms. Your cooperation in this matter is greatly appreciated.

Thank you for your time and consideration.

This email is for use by the intended recipient and contains information that may be confidential. If you are not the intended recipient, please notify the sender by return email and delete this email from your inbox. Any unauthorized use or distribution of this email, in whole or in part, is strictly prohibited and may be unlawful. Any price quotes contained in this email are merely indicative and will not result in any legally binding or enforceable obligation. Unless explicitly designated as an intended e-contract, this email does not constitute a contract offer, a contract amendment, or an acceptance of a contract offer.

Elsevier Limited. Registered Office: 125 London Wall, London, EC2Y 5AS, Registration No. 1982084, Registered in England and Wales. Privacy Policy

Gmail Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>

Request for Permission to Include First Author Journal Article in PhD Thesis

Viruses Editorial Office <viruses@mdpi.com> 9 de novembro de 2023 às 23:36
Para: Mariene Amorim <mariene.ramorim@gmail.com>
Cc: José Luiz Proença Modena <jlmodena@unicamp.br>

Dear Mariene,

Thank you for your email. As all our papers are fully open access and distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution License (CC BY), i.e., authors retain the copyright of their own paper. You can re-use the materials under the conditions stated here: https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/. Therefore, please feel free to reuse under the permission from the corresponding author, and cite the papers where you will reference.

Best regards,

Wynne

--

Ms. Wynne Wang
Managing Editor
Viruses (http://www.mdpi.com/journal/viruses)
Indexed by SCIE (IF 4.7), Scopus (CiteScore 7.1) and PubMed
Follow us on Twitter: @VirusesMDPI

Open for Applicants:
Viruses 2024 Travel Award (800 CHF)
Viruses 2024 Early Career Investigator Award (1000 CHF)
https://www.mdpi.com/journal/viruses/awards

Join us at Viruses 2024 - A World of Viruses in Barcelona on February 14-16, 2024,
and discover the cutting-edge research and advances in the field of virology.
https://viruses2024.sciforum.net/

Editor's Choice Articles
https://www.mdpi.com/about/announcements/6407

On 2023/11/10 8:17, Mariene Amorim wrote:

> CAUTION - EXTERNAL: This email originated from outside of MDPI organisation. BE CAUTIOUS especially to click links or open attachments.

[Texto das mensagens anteriores oculto]