



PROGRAMA DE VOLUNTARIADO ACADÊMICO

TRADUÇÃO LIVRE DE ARTIGOS CIENTÍFICOS SOBRE O COVID-19

Este projeto visa realizar a tradução livre de artigos científicos relacionados ao COVID-19, publicados em revistas internacionais de renome, com o objetivo de fornecer material traduzido e facilitar a compreensão e acesso à informação relevante aos profissionais de saúde de diversas áreas e a população em geral. Não há conflitos de interesse.

Título original: Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19.

Autores: LONG, Quan-Xin; LIU, Bai-Zhong; DENG, Hai-Jun; *et al.*

Publicado em: Nature Medicine. April 29, 2020.

DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.

Respostas de anticorpos ao SARS-CoV-2 em pacientes com COVID-19

Nós relatamos respostas agudas de anticorpos ao SARS-CoV-2 em 285 pacientes com COVID-19. Dentro de 19 dias após o início dos sintomas, 100% dos pacientes testaram positivo para imunoglobulina-G (IgG) antiviral. A seroconversão para IgG e IgM ocorreu simultaneamente ou sequencialmente. Ambos os títulos de IgG e IgM chegaram ao platô dentro de 6 dias após a seroconversão. O teste sorológico pode ser útil para o diagnóstico de pacientes suspeitos com resultados de RT-PCR negativos e para a identificação de infecções assintomáticas.

A disseminação contínua da doença coronavírus 2019 (COVID-19) tem incitado preocupação generalizada ao redor do mundo, e a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 11 de março de 2020, declarou a COVID-19 como uma pandemia. Estudos sobre a síndrome respiratória aguda grave (SARS) e a síndrome respiratória do Oriente Médio mostraram que anticorpos específicos aos vírus foram detectáveis em 80-100% dos pacientes em 2 semanas após o início dos sintomas. Atualmente, as respostas de anticorpos

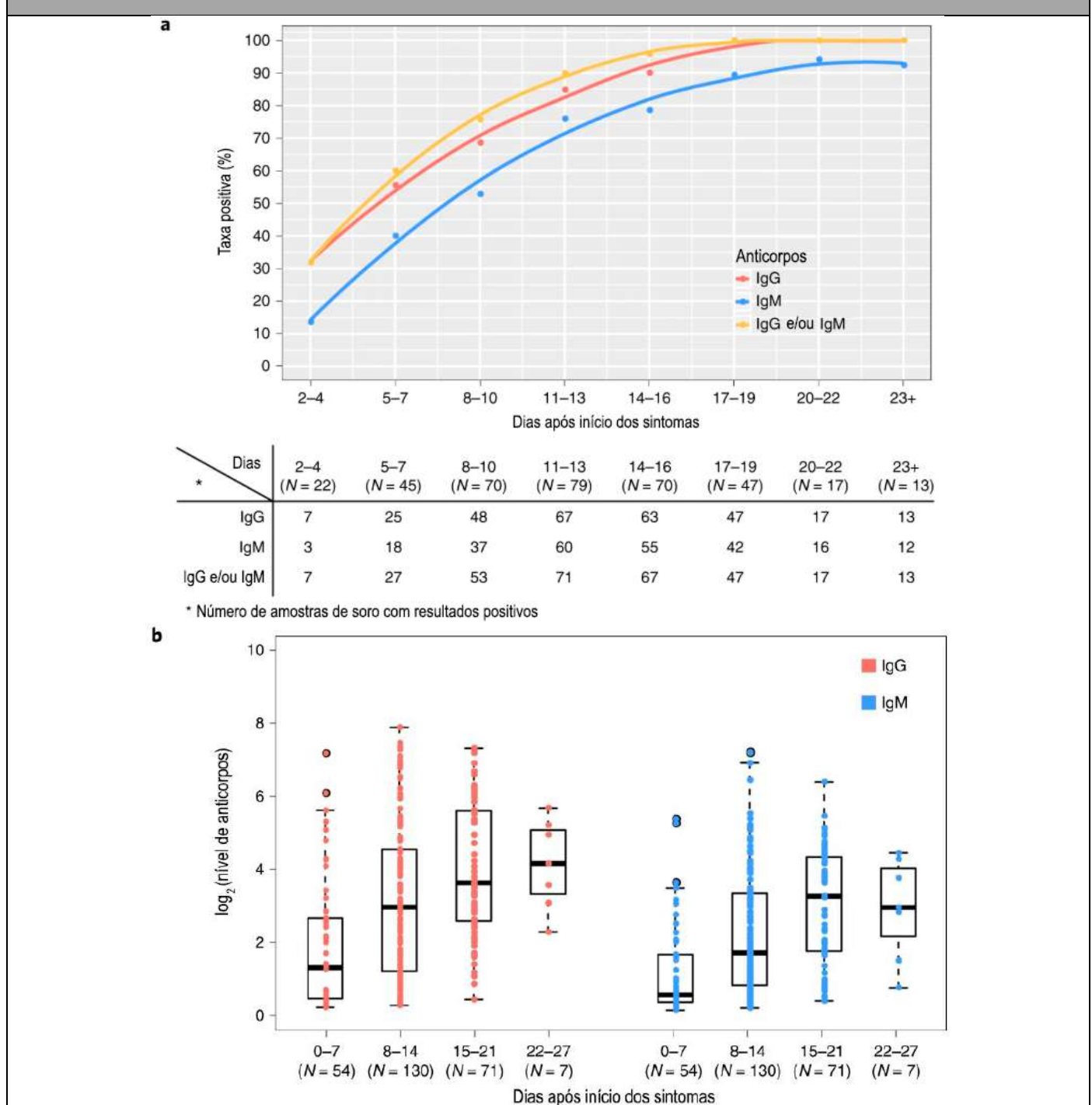
contra o SARS-CoV-2 permanecem mal compreendidas e a utilidade clínica do teste sorológico não é clara.

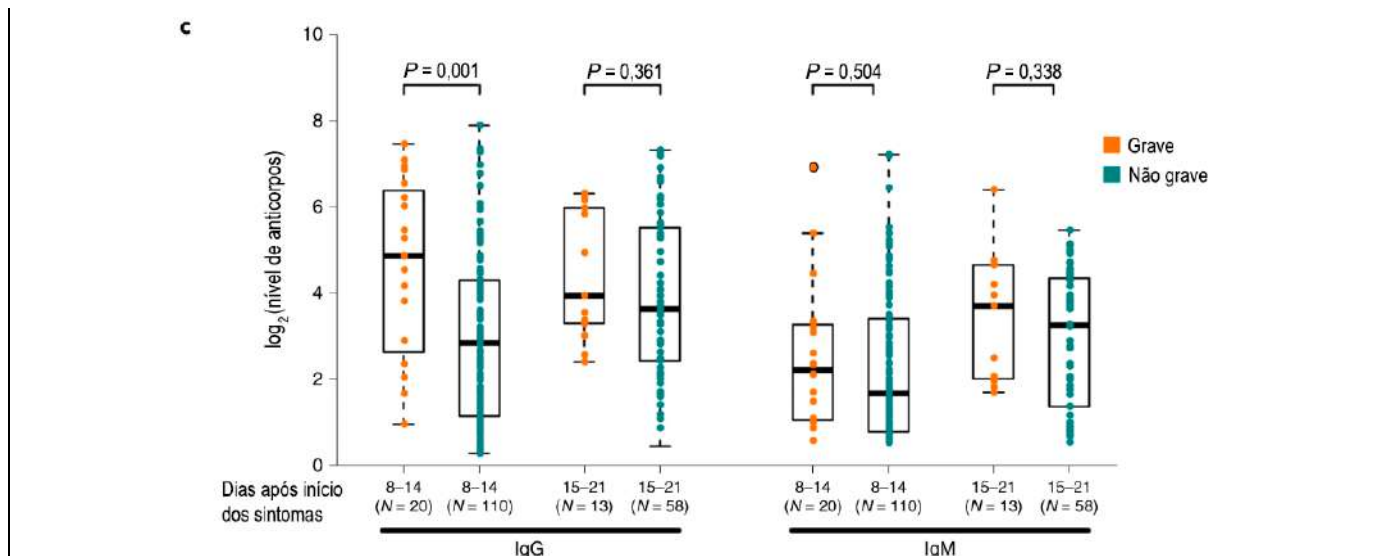
Um total de 285 pacientes com COVID-19 foram inscritos neste estudo de três hospitais projetados; desses pacientes, 70 tinham amostras sequenciais disponíveis. As características desses pacientes são resumidas nas Tabelas Suplementares 1 e 2. Nós validamos e usamos um imunoenensaio de enzima de quimioluminescência magnética (MCLIA) para detecção de anticorpos específicos ao vírus (Dados Estendidos Fig. 1 a-d e Tabela Suplementar 3). Amostras de soro de pacientes com COVID-19 não mostraram nenhuma ligação cruzada para a subunidade S1 do antígeno de pico do SARS-CoV. No entanto, nós observamos alguma reatividade cruzada de amostras de soro de pacientes com COVID-19 para antígenos nucleocapsídeos de SARS-CoV (Dados Estendidos Fig. 1e). A proporção de pacientes com IgG específica ao vírus positiva atingiu 100% aproximadamente 17-19 dias após o início dos sintomas, enquanto que a proporção de pacientes com IgM específica ao vírus positiva atingiu um pico de 94,1% aproximadamente 20-22 dias após o início dos sintomas (Fig. 1^a e Métodos). Durante as 3 primeiras semanas após o início dos sintomas, houve crescimentos nos títulos de anticorpos de IgG e IgM específicas ao vírus

(Fig. 1b). Contudo, a IgM apresentou leve redução no grupo >3-semana em comparação ao grupo <ou=3-semana (Fig. 1b). Os títulos de IgG e IgM no grupo grave foram maiores do que no grupo não grave, embora uma

diferença significativa foi observada apenas no título IgG no grupo 2-semana após início dos sintomas (Fig. 1c, P=0,001).

Fig. 1 | Resposta dos anticorpos contra SARS-CoV-2.





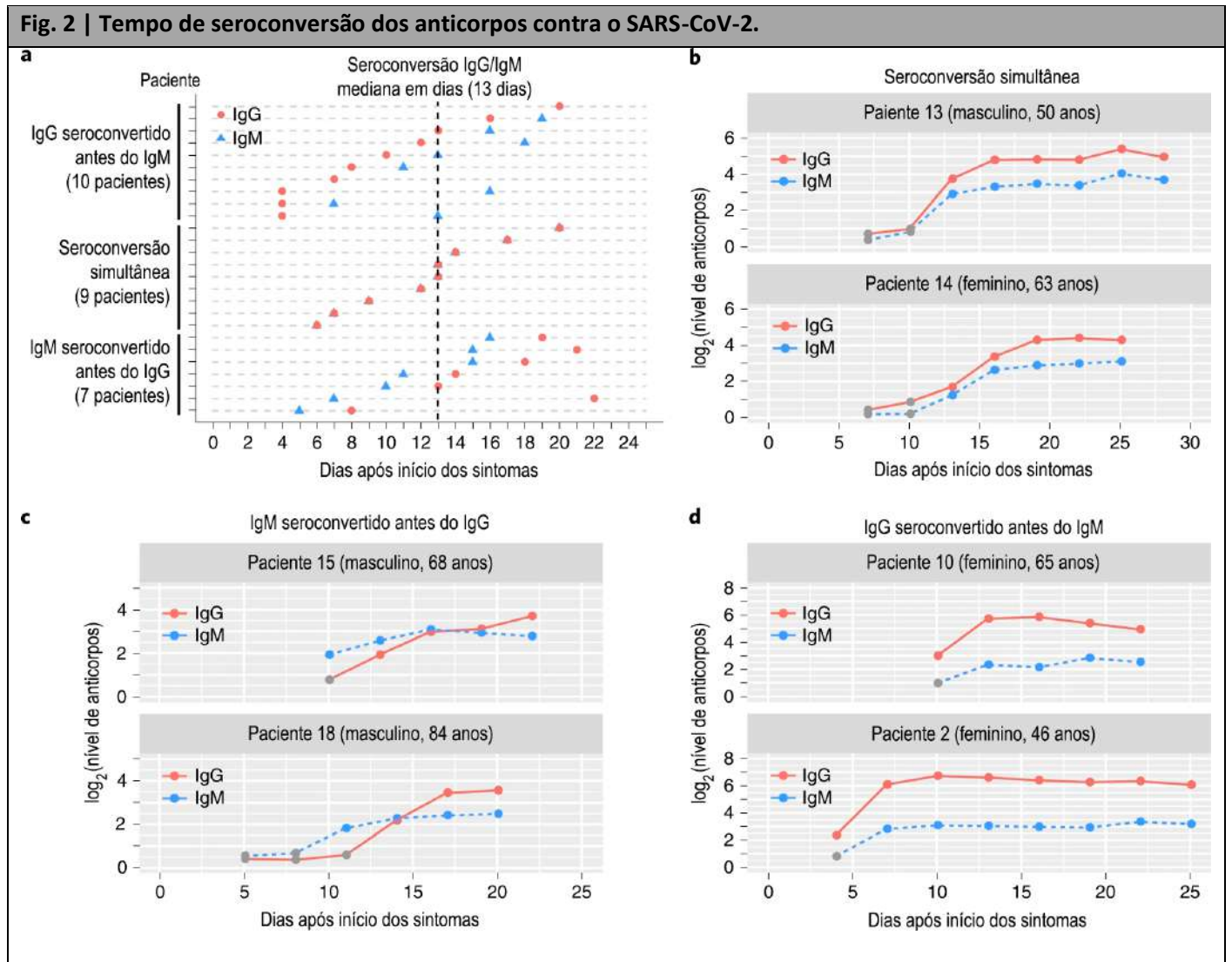
a, Gráfico de taxas positivas de IgG e IgM virais específicos *versus* dias após início dos sintomas em 363 amostras de soro de 262 pacientes. **b**, Níveis de anticorpos contra SARS-CoV-2 em pacientes em diferentes momentos após o início dos sintomas. **c**, Comparação dos níveis de anticorpos contra SARS-CoV-2 entre pacientes graves e não graves. Os diagramas de caixas (*boxplots*) em **b** e **c** mostram medianas (linha do meio) e o primeiro e o terceiro quartis (caixas), enquanto as retas mostram 1,5x o intervalo interquartil (IIQ) acima e abaixo da caixa. Os números de pacientes (*N*) são mostrados embaixo. Os valores-*P* foram determinados com teste U de Mann-Whitney bilateral e não emparelhado.

Sessenta e três pacientes com COVID-19 confirmada foram acompanhados até a alta. Amostras de soro foram coletadas em intervalos de 3 dias. Entre esses, a taxa de seroconversão geral foi 96,8% (61/63) durante o período de acompanhamento. Duas pacientes, uma mãe e uma filha, mantiveram estado negativo de IgG – e IgM – durante a hospitalização. Cursos sorológicos puderam ser acompanhados para 26 pacientes que estavam inicialmente soronegativos e posteriormente sofreram seroconversão durante o período de observação. Todos esses pacientes sofreram seroconversão de IgG ou IgM dentro de 20 dias após o início dos sintomas. O dia médio de seroconversão para ambas IgG e IgM foi 13 dias após o início dos sintomas. Três tipos de seroconversão foram observados: seroconversão sincrônica de IgG e IgM (nove pacientes), seroconversão de IgM anterior à de IgG (sete pacientes) e seroconversão de IgM posterior à de IgG (dez pacientes) (Fig. 2^a). Mudanças longitudinais de anticorpos em seis pacientes representativos dos três tipos de seroconversão são mostradas em Fig. 2b-d e Dados Estendidos Fig. 2^a-c.

Os níveis de IgG nos 19 pacientes que sofreram seroconversão de IgG durante hospitalização atingiram o platô 6 dias após a primeira medição de IgG positiva (Dados Estendidos Fig. 3). Os níveis de platô de IgG variaram amplamente (mais de 20 vezes) através dos pacientes. IgM também apresentou um perfil similar de mudanças dinâmicas (Dados Estendidos Fig. 4). Nós não encontramos nenhuma associação entre os níveis de platô de IgG e as características clínicas dos pacientes (Dados Estendidos Fig. 5^a-d). Nós em seguida analisamos se os critérios para confirmação de infecção por MERS-CoV recomendados pela OMS, incluindo (1) seroconversão ou (2) um crescimento de quatro vezes em títulos de anticorpos específicos de IgG, são adequados para o diagnóstico de COVID-19 (usando amostras emparelhadas de 41 pacientes). A amostra inicial foi coletada na primeira semana de doença e a segunda foi coletada 2-3 semanas depois. Dos pacientes cuja IgG era inicialmente soronegativa na primeira semana de doença, 51,2% (21/41) sofreram seroconversão. Um total de 18 pacientes eram inicialmente soropositivos na primeira semana de doença; desses, oito pacientes tiveram um aumento de

quatro vezes nos títulos de IgG específica ao vírus (Dados Estendidos Fig. 6). No total, 70,7% (29/41) dos pacientes com COVID-19 se enquadraram no critério de

seroconversão de IgG e/ou crescimento de quatro vezes ou mais nos títulos de IgG.



a, Tipo de seroconversão de 26 pacientes, os quais eram inicialmente seronegativos durante o período de observação. Os dias das seroconversões para cada paciente estão marcados. **b–d**, 6 exemplos representativos de 3 tipos de seroconversões: seroconversão simultânea de IgG e IgM (**b**), seroconversão de IgM antes da de IgG (**c**) e seroconversão de IgM após a de IgG (**d**).

Para investigar se o teste sorológico poderia ajudar a identificar pacientes com COVID-19, nós selecionamos 52 casos suspeitos de pacientes que exibiram sintomas de COVID-19 ou achados radiológicos abdominais e para os quais o teste para RNA viral foi negativo em pelo menos duas amostras sequenciais. Dos 52 casos suspeitos, quatro tinham IgG ou IgM específicas ao vírus nas amostras iniciais (Dados Estendidos Fig. 7). O paciente 3 teve um aumento maior

do que quatro vezes no título de IgG, 3 dias após o teste sorológico inicial. Curiosamente, o paciente 3 também testou positivo para infecção viral por meio de transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) entre as duas medições de anticorpos. O título de IgG aumentou em três amostras sequenciais do paciente 1 (<4 vezes). O paciente 4 teve os títulos de IgG e de IgM, respectivamente, cem vezes e dez vezes maiores do que os valores de corte em duas

amostras sequenciais. O paciente 2 testou positivo para ambas IgG e IgM específicas ao vírus. Um aumento de IgG e/ou IgM em amostras sequenciais ou um resultado positivo em uma única amostra coletada 2 semanas após sintomas sugerem que esses três pacientes estavam infectados por SARS-CoV-2.

Nós, além disso, demonstramos a aplicação do teste sorológico no monitoramento em um grupo de 164 contatos próximos de pacientes com COVID-19 conhecida. Dezesesseis indivíduos foram confirmados como infectados por SARS-CoV-2 por meio de RT-PCR, com três casos não reportando nenhum sintoma. Os outros 148 indivíduos tiveram resultados de RT-PCR negativos e nenhum sintoma (Dados Estendidos Fig. 8). Amostras de soro foram coletadas desses 164 indivíduos para testes de anticorpos ~30 dias após exposição. Os 16 casos confirmados por RT-PCR foram todos positivos para IgG e/ou IgM específicas ao vírus. Além disso, 7 dos 148 indivíduos com resultados de RT-PCR negativos tiveram IgG e/ou IgM específicas ao vírus positivas, indicando que 4,3% (7/164) dos contatos próximos passaram despercebidos pelo teste de ácido nucleico. Dez dos 164 contatos próximos que tiveram IgG e/ou IgM específicas ao vírus positivas foram assintomáticos.

O nosso estudo mostrou que os critérios para a confirmação de infecção por MERS-CoV são adequados para a maioria dos pacientes com COVID-19. No entanto, uma coleta da primeira amostra de soro o mais cedo possível é necessária para alguns pacientes para cumprir esses critérios, pois 12,2% (5/41) dos pacientes haviam atingido o platô do título de IgG dentro de 7 dias após o início dos sintomas (Dados Estendidos Fig. 6). Para aqueles pacientes dos quais não foram tiradas amostras durante o período ideal, testes sorológicos repetidos seriam necessários para confirmar uma resposta de anticorpos a infecção por SARS-CoV-2.

O nosso estudo tem algumas limitações. Primeiramente, nós não testamos amostras para neutralização do vírus e, portanto, as atividades neutralizantes dos anticorpos de IgG detectados são desconhecidas. Segundamente, devido ao tamanho de amostra pequeno de pacientes em condição grave e

crítica, é difícil determinar a associação entre resposta de anticorpos e curso clínico.

A detecção de RNA viral baseada em RT-PCR é sensível e pode efetivamente confirmar infecção recente por SARS-CoV-2. Nossos dados indicam que a detecção de anticorpos específicos ao vírus para COVID-19 poderia ser importante (1) como um complemento para o teste de ácido nucleico para o diagnóstico de casos suspeitos com resultados de RT-PCR negativos e (2) na investigação por infecção assintomática em contatos próximos. Confirmar casos suspeitos de COVID-19 o mais cedo possível, com a ajuda do teste sorológico, poderia reduzir o risco de exposição durante repetidas amostragens e poderia economizar testes de RT-PCR valiosos. Na nossa pesquisa em pequena escala, sete casos com resultados de ácido nucleico negativos e nenhum sintoma apresentaram IgG e/ou IgM positivas. Isso ressalta a importância do teste sorológico para alcançar estimativas mais precisas sobre a extensão da pandemia de COVID-19.

Conteúdo online

Quaisquer métodos, referências adicionais, resumos de relatórios da Nature Research, fonte, dados estendidos, informações suplementares, reconhecimentos, informações de revisões por pares; detalhes de contribuições do autor e interesses concorrentes; e declarações de dados e disponibilidade de código estão disponíveis em <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.

Referências

1. Corman, V. M. et al. Viral shedding and antibody response in 37 patients with Middle East respiratory syndrome coronavirus infection. *Clin. Infect. Dis.* 62, 477–483 (2016).
2. Li, G., Chen, X. & Xu, A. Profile of specific antibodies to the SARS-associated coronavirus. *N. Engl. J. Med.* 349, 508–509 (2003).
3. Hsueh, P. R., Huang, L. M., Chen, P. J., Kao, C. L. & Yang, P. C. Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-

associated coronavirus. Clin. Microbiol. Infect. 10, 1062–1066 (2004).

4. Park, W. B. et al. Kinetics of serologic responses to MERS coronavirus infection in humans, South Korea. Emerg. Infect. Dis. 21, 2186–2189 (2015).

5. Drosten, C. et al. Transmission of MERS-coronavirus in household contacts. N. Engl. J. Med. 371, 828–835 (2014).

6. Meyer, B., Drosten, C. & Muller, M. A. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. Virus Res. 194, 175–183 (2014).

7. Tang, Y. W., Schmitz, J. E., Persing, D. H. & Stratton, C. W. Te laboratory diagnosis of COVID-19 infection: current issues and challenges. J. Clin. Microbiol. <https://doi.org/10.1128/JCM.00512-20> (2020).

8. Zou, L. et al. SARS-CoV-2 viral load in upper respiratory specimens of infected patients. N. Engl. J. Med. 382, 1177–1179 (2020).

Nota da editora: Springer Nature permanece neutra em relação às reivindicações jurisdicionais em mapas publicados e afiliações institucionais

MÉTODOS

Projeto do estudo. Um total de 285 pacientes com COVID-19 foram inscritos neste estudo transversal de três hospitais designados em Chongqing, um município ao nível de província adjacente à Província de Hubei, a qual foi o ponto inicial e epicentro da epidemia de COVID-19. Esses três hospitais – Chongqing Tree Gorges Central Hospital (TGH), Yongchuan Hospital Affiliated to Chongqing Medical University (CQMU) (YCH) e Chongqing Public Health Medical Center (CQPHMC) – foram atribuídos pelo governo popular municipal de Chongqing à admissão de pacientes das três áreas designadas. Todos os pacientes inscritos foram confirmados como infectados por SARS-CoV-2 por meio de testes de RT-PCR em amostras de swab nasais e faríngeas. A idade média desses pacientes inscritos era 47 anos (IQR, 34-56 anos) e 55,4% eram homens. Entre eles, 250 pacientes tinham uma história epidemiológica, enquanto que 262 tinham um claro registro do início dos sintomas e 70 pacientes tiveram múltiplas amostras de soro. Um total de 363 amostras de soro de pacientes com uma clara história de início dos sintomas foram incluídas na análise. Dos 285 pacientes, 39 foram classificados como em uma condição grave ou crítica de acordo com o Protocolo de Diagnóstico e Tratamento para a Pneumonia do Novo Coronavírus (Versão de Teste 7), liberado pela Comissão de Saúde Nacional & Administração Estatal de Medicina Chinesa Tradicional. Para a coorte acompanhada, as amostras de soro de 63 pacientes em YCH foram obtidas em intervalos de 3 dias desde 8 de fevereiro de 2020 até alta do hospital. Para analisar se os critérios sorológicos para confirmação de MERS-CoV recomendados pela OMS eram adequados para o diagnóstico de COVID-19, dois critérios de inclusão foram definidos para testar pacientes: (1) primeira amostra de soro coletada dentro da primeira semana após início da doença ou (2) primeira amostra de soro coletada em pelo menos 7 dias após o início da doença, mas com IgG negativa. Trinta e quatro pacientes cumpriram o critério 1 e sete pacientes cumpriram o critério 2.

Para avaliar o potencial do teste sorológico no diagnóstico de COVID-19, nós registramos 52 pacientes

com suspeita de COVID-19 admitidos no Wanzhou People's Hospital (Chongqing, China) que tinham sintomas respiratórios ou imagem pulmonar anormal, mas com resultados de RT-PCR negativos em pelo menos dois testes sequenciais. As amostras de soro foram coletadas no tempo indicado em Dados Estendidos Fig. 7 e anticorpos contra SARS-CoV-2 foram testados.

Uma pesquisa sorológica foi realizada em um grupo de contatos próximos composto de 164 indivíduos, identificados pelo centro local de prevenção e controle de doença. (Wanzhou, Chongqing). Um casal que havia viajado de volta da cidade de Wuhan, e que foi confirmado como infectado por SARS-CoV-2 em 4 de fevereiro de 2020, foi considerado a primeira geração de pacientes nessa rede de contato. Todos os outros casos dessa coorte tiveram contato próximo (seja direta ou indiretamente) com esse casal no período de 20 de janeiro a 6 de fevereiro de 2020. Em 1 de março, amostras de soro foram coletadas desses 164 casos para testes de anticorpos.

Definições. Os pacientes com histórico epidemiológico foram definidos da seguinte forma: residentes em Wuhan; esteve recentemente em Wuhan (30 dias antes do início dos sintomas); residente local que teve contato com casos confirmados. A seroconversão foi definida como uma transição dos resultados dos testes para IgG ou IgM contra SARS-CoV-2 de resultados negativos para positivos em amostras sequenciais. Os níveis de anticorpos foram apresentados como valores de quimioluminescência, divididos pelo ponto de corte (absorvância/ponto de corte, S/CO): $S/CO > 1$ foi definido como positivo e $S/CO \leq 1$ como negativo.

Detecção de IgG e IgM contra SARS-CoV-2. Para medir o nível de IgG e IgM contra SARS-CoV-2, foram coletadas amostras de soro dos pacientes. Todas as amostras de soro foram inativadas a 56°C por 30 min e armazenadas a -20°C antes do teste. A IgG e IgM contra SARS-CoV-2 em amostras de plasma foram testadas usando kits MCLIA fornecidos pela Bioscience Co. (aprovado por China National Medical Products Administration; números de aprovação 20203400183 (IgG) e

20203400182 (IgM)) de acordo com as instruções do fabricante. O MCLIA para detecção de IgG ou IgM foi desenvolvido com base em um imunoenensaio em sanduiche de anticorpo duplo. Os antígenos recombinantes contendo a nucleoproteína e um peptídeo da proteína spike de SARS-CoV-2 foram conjugados com anticorpo anti-FITC. O anticorpo anti-IgG/IgM humano conjugado com fosfatase alcalina foi utilizado como anticorpo de detecção. Os testes foram realizados em um analisador automatizado de quimioluminescência magnética (Axceed 260, Bioscience) de acordo com as instruções do fabricante. Todos os testes foram realizados sob rigorosas condições de biossegurança. O título de anticorpos foi testado uma vez por amostra de soro. Os níveis de anticorpos são apresentados como valores de quimioluminescência medidos e divididos pelo ponto de corte (S/CO). O valor de corte deste teste foi definido pelas curvas de características operacionais do receptor. Os níveis de anticorpos nas figuras foram calculados como $\log_2(S/CO + 1)$.

Avaliação de desempenho do ensaio de detecção de IgG/IgM específico para SARS-CoV-2. A precisão e a reprodutibilidade dos kits MCLIA foram avaliadas primeiro pelos Institutos Nacionais de Controle de Alimentos e Medicamentos. Além disso, foram testadas 30 amostras de soro de pacientes com COVID-19 mostrando diferentes títulos de IgG (intervalo de 0,43 a 187,82) e IgM (intervalo de 0,26 a 24,02). Cada amostra individual foi testada em três experimentos diferentes e o coeficiente de variação (CV) foi usado para avaliar a precisão do ensaio. Finalmente, 46 amostras de soro de pacientes com COVID-19 foram avaliadas usando diferentes lotes do kit de diagnóstico para anticorpos IgG ou IgM específicos para SARS-CoV-2; a reprodutibilidade foi calculada com base nos resultados de dois experimentos em lote.

Reatividade cruzada de antígenos de SARS-CoV e SARS-CoV-2. Duas proteínas nucleocapsídicas (N) recombinantes de SARS-CoV de duas fontes diferentes (Sino Biological, cat. 40143-V08B; Biorbyt, cat. Orb82478), a subunidade S1 recombinante do pico de SARS-CoV (Sino Biological, cat. n° 40150-V08B1) e a

proteína N recombinante caseira de SARS-CoV-2 foram usadas em um imunoenensaio enzimático por quimioluminescência (CLEIA), respectivamente. A concentração de antígenos utilizados no revestimento da placa foi de 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$. A diluição dos anticorpos IgG anti-humano de cabra conjugado com fosfatase alcalina foi de 1: 2.500. Cinco amostras de soro de pacientes com COVID-19 e cinco amostras de soro de controles saudáveis foram diluídas (1:50) e testadas usando ensaios CLEIA. A capacidade de ligação do anticorpo ao antígeno em uma amostra foi medida em unidades de luminescência relativa.

Análises estatísticas. As variáveis contínuas são expressas como mediana (IQR) e comparadas com o teste U de Mann-Whitney. As variáveis categóricas são expressas como números (%) e foram comparadas pelo teste exato de Fisher. Um valor $< 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. As análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 3.6.0.

Aprovação ética. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Universidade Médica de Chongqing (ref. 2020003). O consentimento informado por escrito foi dispensado pela Comissão de Ética do hospital designado para doenças infecciosas emergentes.

Resumo dos relatórios: mais informações sobre o projeto de pesquisa estão disponíveis no Resumo de Relatórios da Nature, vinculado a este artigo.

DISPONIBILIDADE DE DADOS

Os dados brutos deste estudo são fornecidos no conjunto de dados suplementar. Dados adicionais de suporte estão disponíveis pelos autores correspondentes, mediante solicitação. Todas as solicitações de dados e materiais brutos e analisados serão revisadas pelos autores correspondentes para verificar se a solicitação está sujeita a quaisquer obrigações de propriedade intelectual ou confidencialidade. Dados de origem para a Fig. 1 e Dados Estendidos Fig. 1 e 5 estão disponíveis online.

RECONHECIMENTOS

Agradecemos C.-Y. Yang e L.Y. Kwan pela revisão crítica do manuscrito. Este trabalho foi apoiado pelo Projeto de Emergência da Comissão de Ciência e Tecnologia de Chongqing e uma grande concessão do Programa Nacional de C&T (2017ZX10202203 e 2017ZX10302201) da Comissão de Ciência e Tecnologia da China.

CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR

A conceituação foi fornecida por A.-L.H. A metodologia foi desenvolvida por X.-F.C., D.-Q.W., P. Liu, Q.-X.L., K.D. e M.-M.Z. As investigações foram realizadas por Q.-X.L., H.-J.D., J.C., J.-L.H., B.-Z.L., G.-C.W., K.D., Y.-K.C. e Y.H. O rascunho original do manuscrito foi escrito por Q.-X.L., H.-J.D., J.C. e J.-L.H. Revisão e edição do manuscrito foi realizado por Q.-X.L., H.-J.D., J.C., J.-L.H., Y.L. e A.-L.H. Aquisição de recursos foi realizada por A.-L.H. e J.-L.H. Os recursos foram fornecidos por Y.-Y.X., L.-H.Y., Z.M., F.G., X.-M.L., X.-X.Z., Z.-J.L., K.W., X.-L.Z., W.-G.T., C.-C.N., Q.-J.Y., J.-L.X., H.-X.D., H.-W.L., C.-H.L., X.-H.L., S.-B.W., X.-P.C., Z.Z., J.W., C.-J.X., X.-F.L., L.W., X.-J.T., Y.Z., J.-F.Q., X.-M.L., L.H., J.-J.L., D.-C.Z., F.Z., J.-H.R., N.T., J.Y. e Q.L. A.-L.H. supervisão fornecida.

INTERESSES COMPETITIVOS

Os autores declararam não ter interesses concorrentes.

INFORMAÇÃO ADICIONAL

Dados estendidos disponíveis para este artigo em <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>.

Informações adicionais estão disponíveis para este artigo em <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0897-1>

Correspondências e solicitações de materiais devem ser endereçadas a J.-L.H. ou A.-L.H.

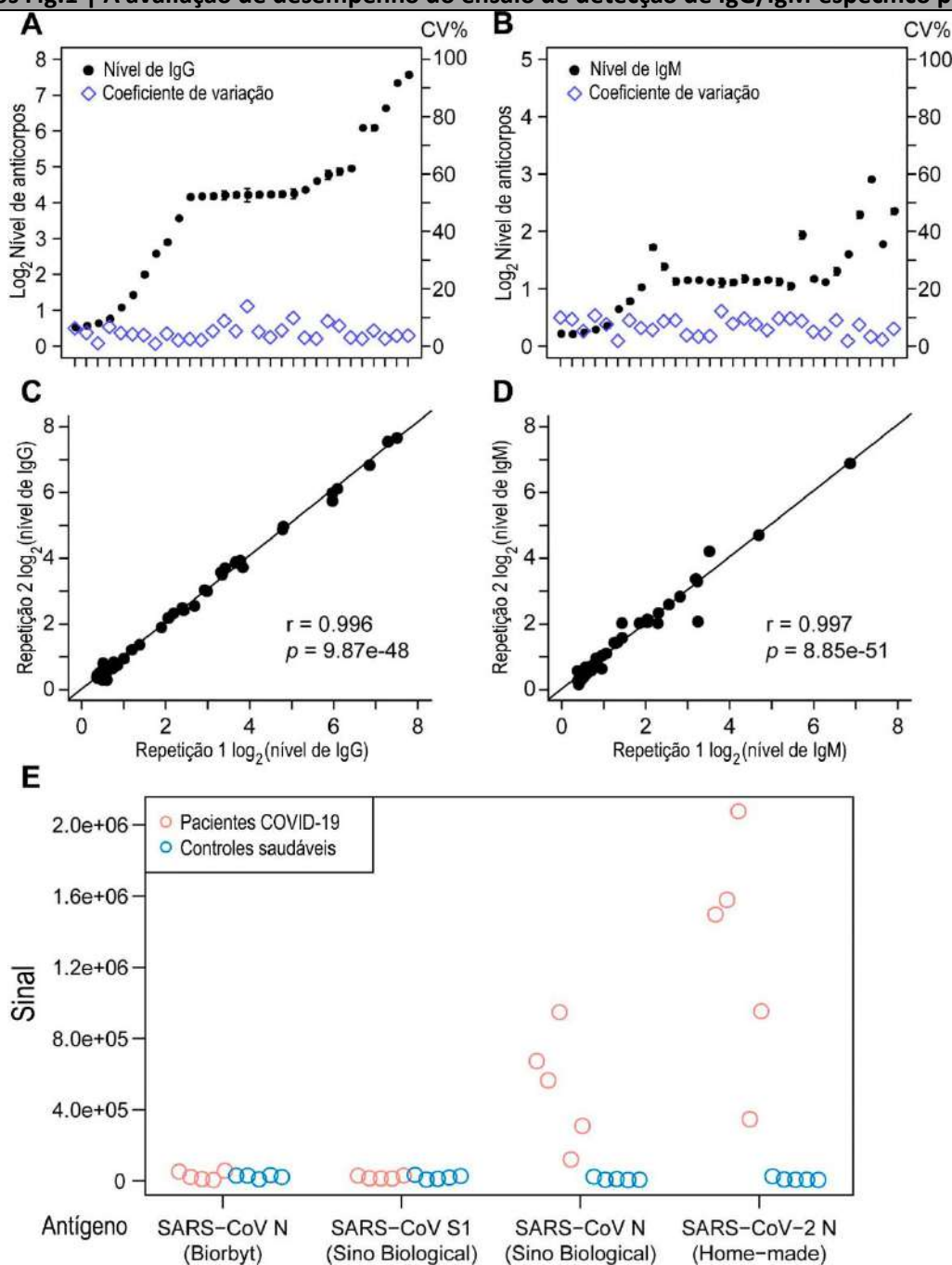
Informações sobre a revisão: Saheli Sadanand foi o principal editor deste artigo e gerenciou seu processo editorial e a revisão por pares em colaboração com o restante da equipe editorial.

Informações sobre reimpressões e permissões estão disponíveis em www.nature.com/reprints.

Autor(es) correspondente(s): Ai-Long Huang.

Última atualização pelo autor(es): 17 de abril de 2020.

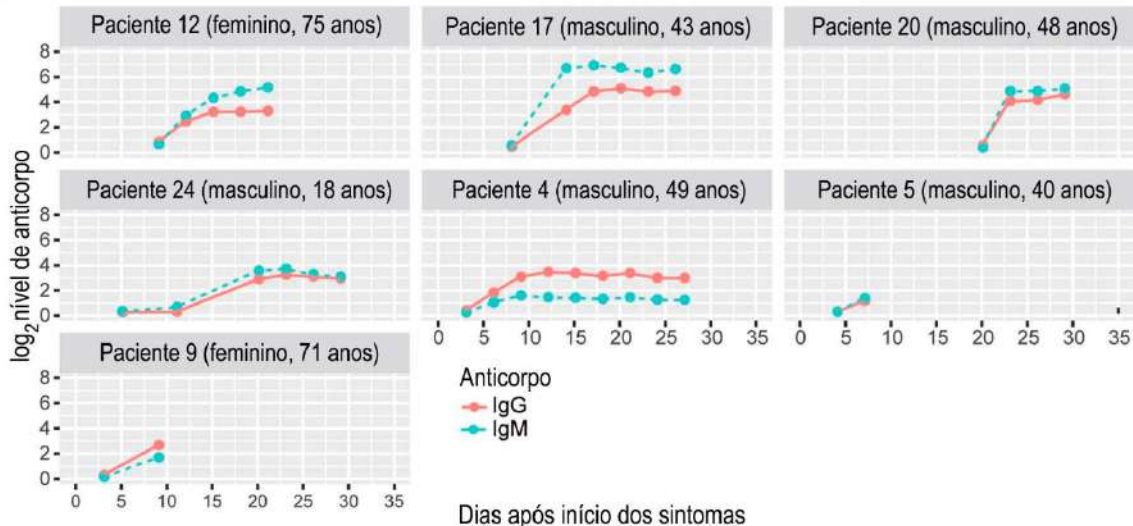
Dados estendidos Fig.1 | A avaliação de desempenho do ensaio de detecção de IgG/IgM específico para SARS-CoV-2



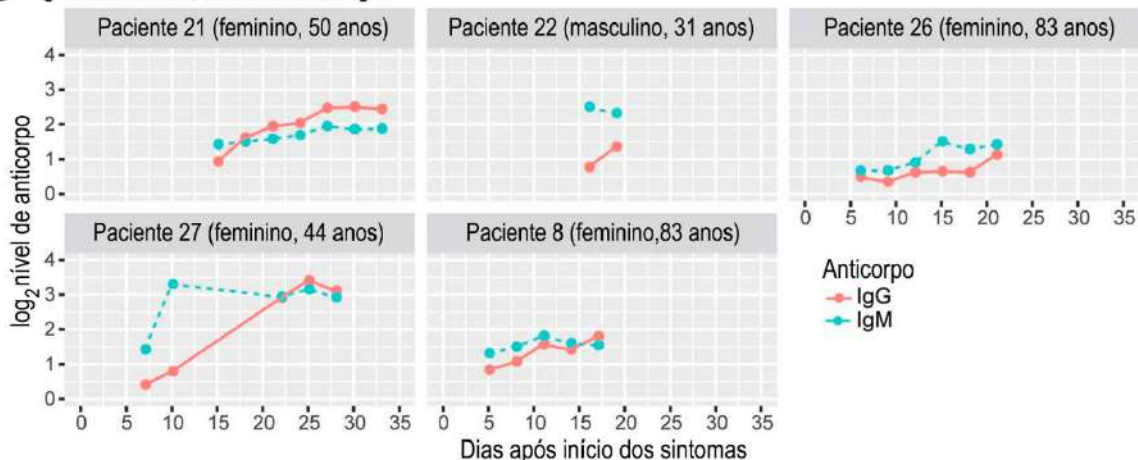
Trinta amostras de soro de pacientes COVID-19 mostrando diferentes títulos de IgG (a) (intervalo de 0,43 a 187,82) e IgM (b) (intervalo de 0,26 a 24,02) foram testadas. Cada amostra individual foi testada em 3 experimentos independentes. Títulos dos CVs de certas amostras foram calculadas e apresentadas. c,b. A análise de correlação de títulos IgG e IgM em amostras de soro de pacientes com COVID-19 de 2 experimentos independentes. 46 amostras de soros de pacientes COVID-19 foram detectadas usando diferentes lotes de kits de diagnóstico para anticorpos IgG (c) ou IgM (d) contra SARS-CoV-2. Os coeficientes de correlação de Pearson (R) são representados em gráficos. Para IgG, $r=0,996$, $p=9,87e-48$; para IgM, $r=0,997$, $p=8,85e-51$. e. As reatividades entre soros de pacientes COVID-19 (N = 5) e proteínas de SARS-CoV S1, N (duas fontes) e de SARS-CoV-2 N foram mensuradas por ELISA. Amostras de soro de pacientes COVID-19 não mostraram ligação cruzada com antígenos de SARS-CoV S1, enquanto a reatividade entre soros de pacientes COVID-19 e antígenos de SARS-CoV N de diferentes origens foi inconsistente.

Dados estendidos Fig. 2 | Três tipos de seroconversão

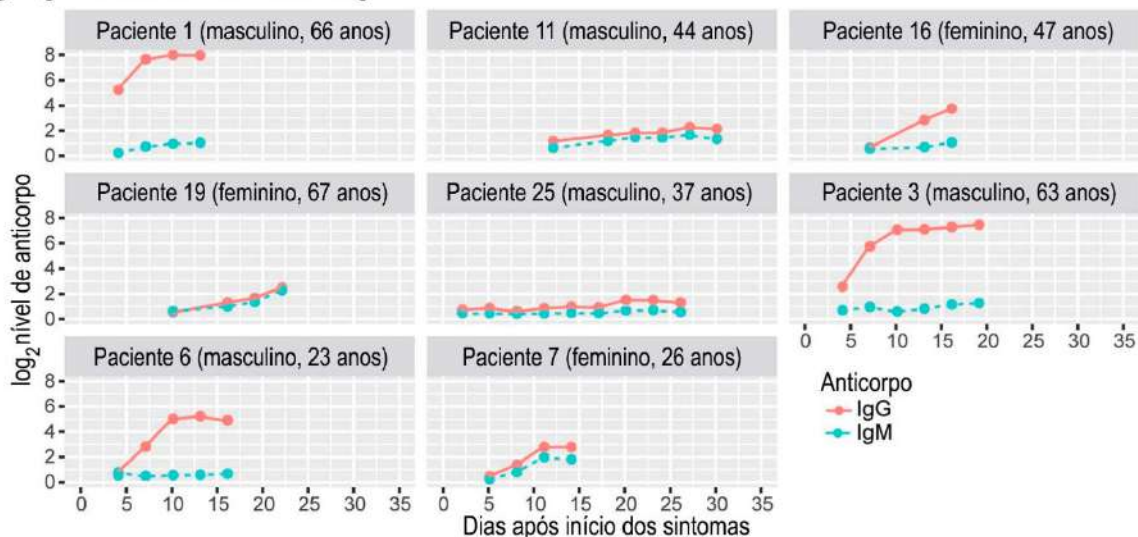
A Seroconversão simultânea



B IgM seroconvertido antes do IgG

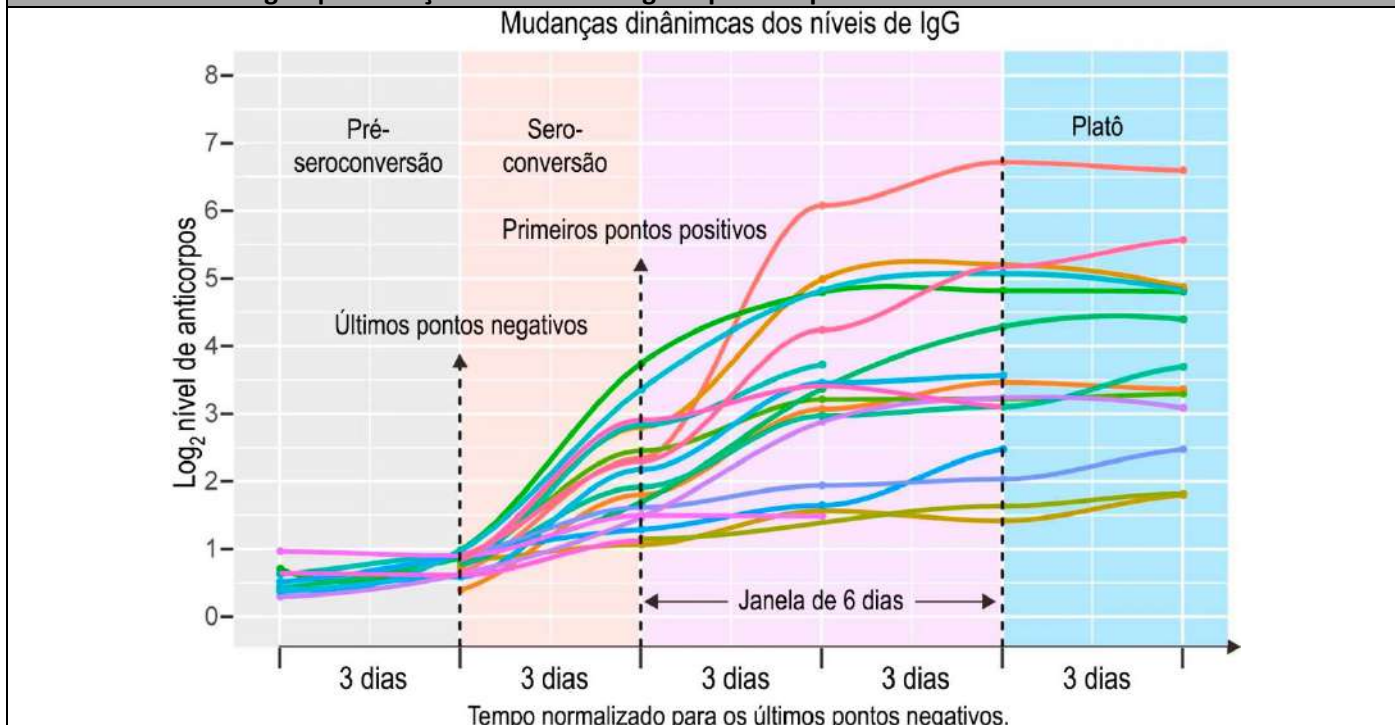


C IgG seroconvertido antes do IgM



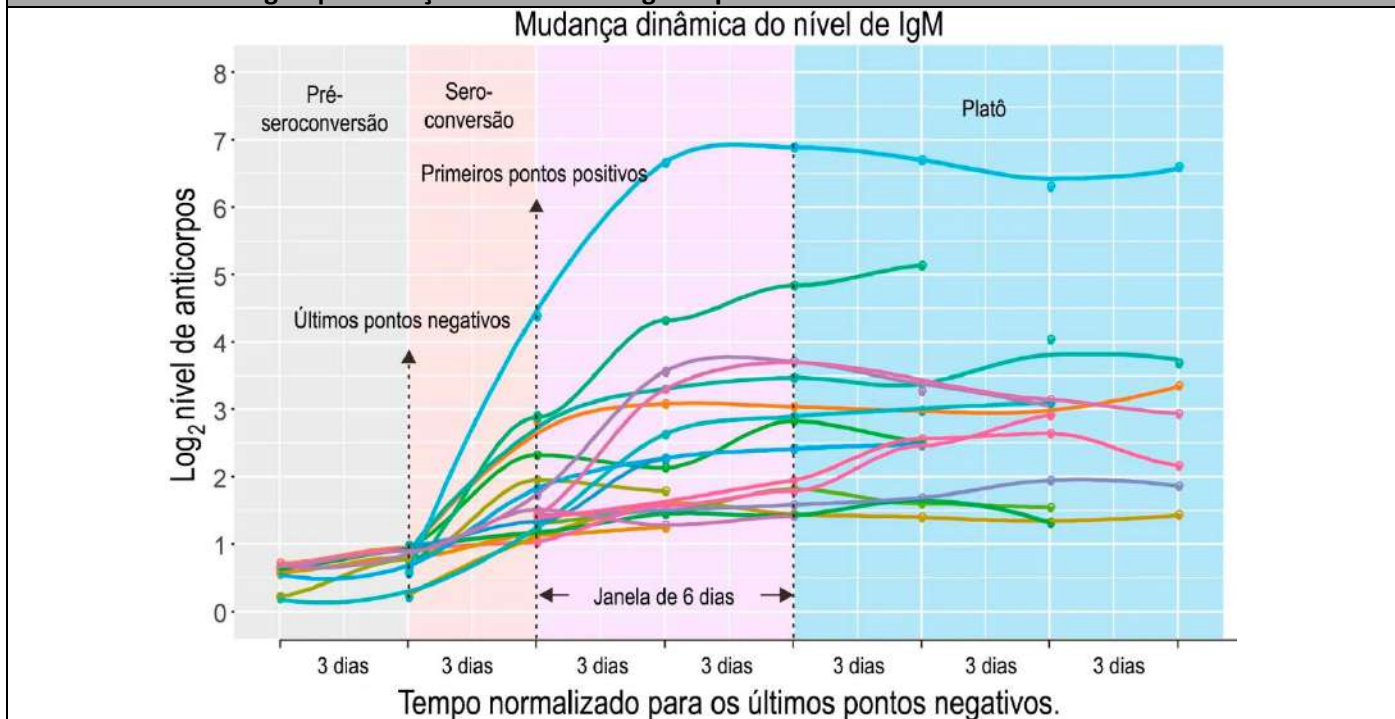
A. Pacientes com uma seroconversão simultânea de IgG e IgM (N=7). **B.** Seroconversão de IgG ocorreu posteriormente à de IgM (N=5). **C.** Seroconversão de IgG ocorreu anteriormente à de IgM (N=8).

Dados estendidos Fig. 3 | Mudanças dinâmicas do IgG específico para SARS-CoV-2

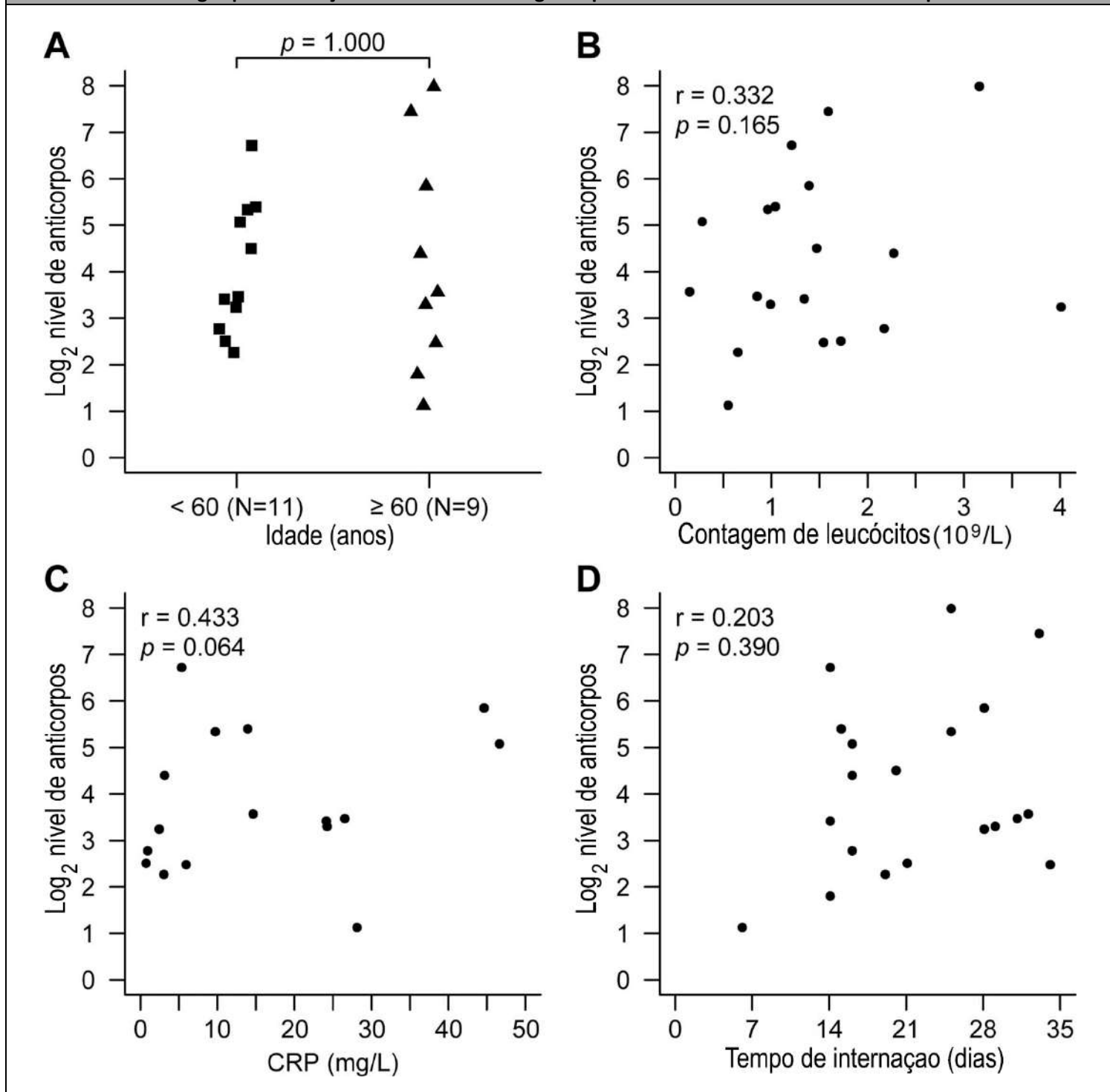


O curso temporal do nível IgG específico para o vírus em 19 pacientes experienciou platô no título de IgG. O anticorpo em cada paciente atingiu o platô dentro de 6 dias desde que o IgG tenha se tornado positivo.

Dados estendidos Fig. 4 | Mudanças dinâmicas do IgM específico ao SARS-CoV-2

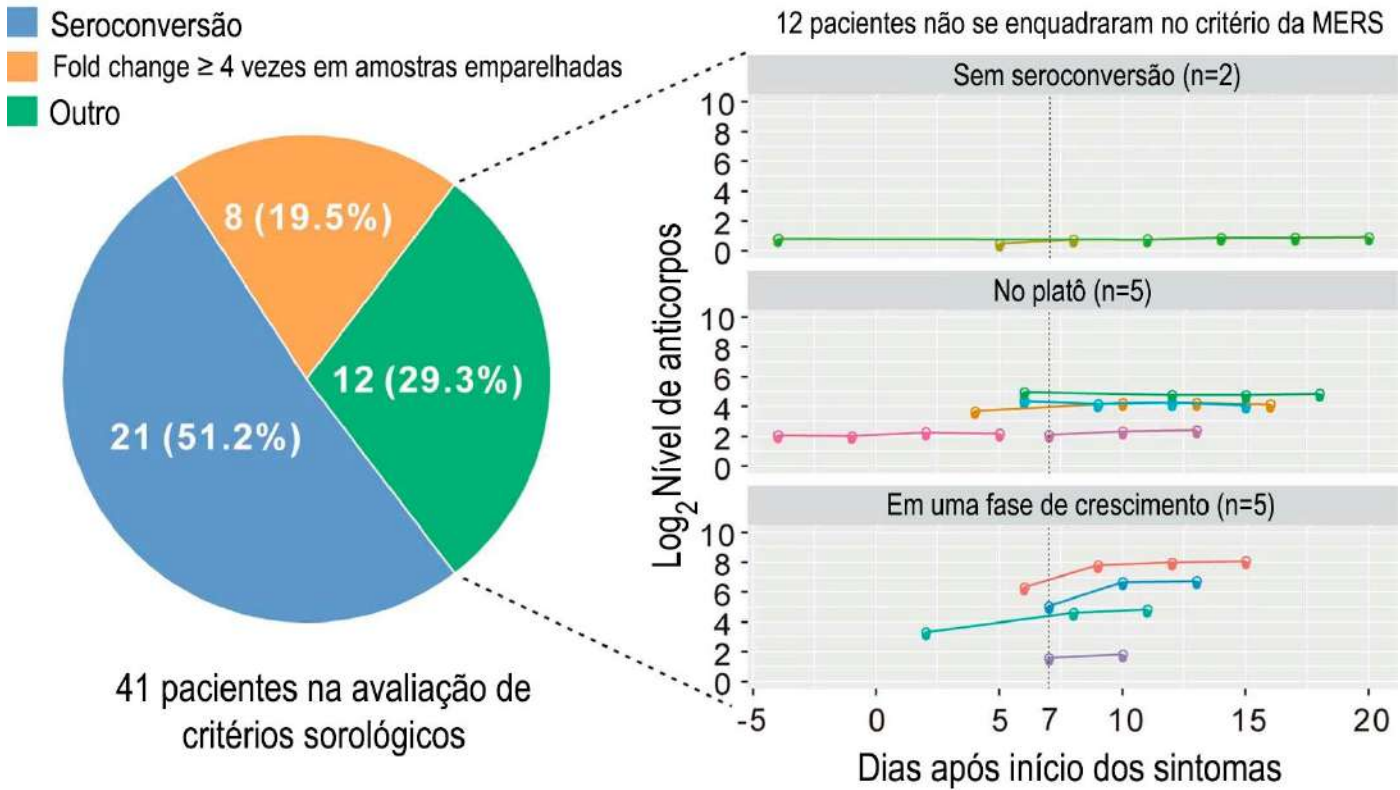


O curso temporal do nível de IgM específico ao vírus, em 20 pacientes, experienciou platô no título de IgM. O anticorpo em cada paciente atingiu o platô dentro de 6 dias, após o IgM se tornar positivo.



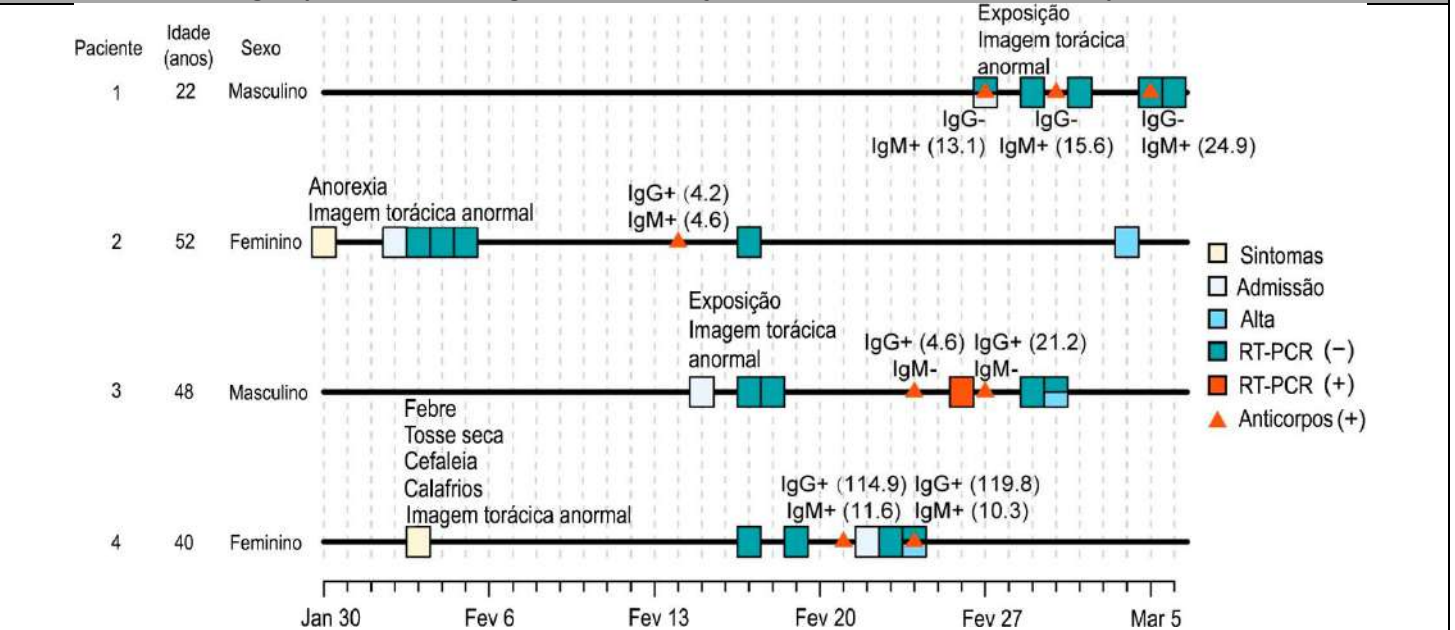
A. Não foi encontrada nenhuma diferença significativa nos níveis de IgG durante o platô entre os grupos < 60 anos (N=11) e ≥ 60 anos (N=9). Teste U de Mann-Whitney bilateral e não emparelhado, $p=1,000$. **B–D.** Nenhuma associação foi encontrada entre os níveis de IgG no platô e a contagem de linfócitos (B) ou CRP (C), ou o tempo de internação (D) dos pacientes (N=20). Os coeficientes de correlação de Pearson (r) e valor- p são representados nas parcelas.

Dados estendidos Fig. 6 | A avaliação do critério sorológico da MERS para COVID-19.



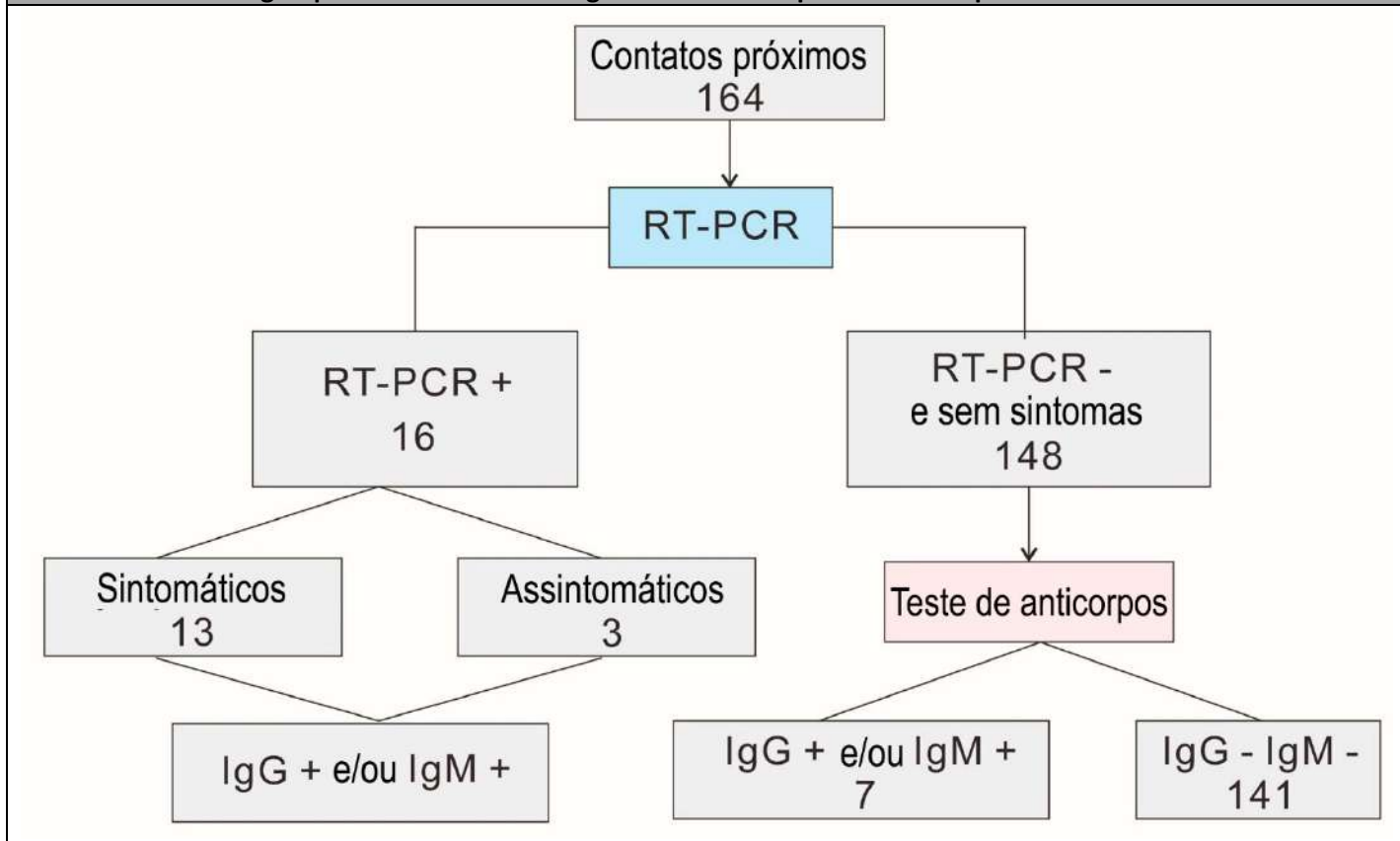
A avaliação dos critérios sorológicos da MERS para confirmação do COVID-19 foi realizada em 41 pacientes com amostras sequenciais. Todos os 41 pacientes foram classificados dentro de 3 grupos baseado na alteração do IgG de amostras sequenciais, incluindo (1) seroconversão, (2) *fold-change* (expressão relativa) ≥ 4 vezes em amostras emparelhadas, (3) nenhuma das duas.

Dados estendidos Fig. 7 | Teste de sorologia na identificação de COVID-19 em 52 casos suspeitos



Foram apresentadas cronologia do início dos sintomas, RT-PCR e testes sorológicos em 4 casos que desenvolveram IgG e/ou IgM positivos.

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>



Um agrupamento de 164 contatos próximos de pacientes conhecidos com COVID-19 foi testado por RT-PCR seguido de teste sorológico. Foram coletadas amostras de soro desses 164 indivíduos para testes de anticorpos aproximadamente 30 dias após a exposição.

RESUMO DOS RELATÓRIOS

A pesquisa da Nature deseja melhorar a reprodutibilidade do trabalho que publicamos. Este formulário fornece estrutura para a consistência e transparência nos relatórios. Para mais informações sobre as políticas de pesquisa da Nature, consulte Autores e Árbitros e a Lista de Verificação de Política Editorial.

Estatísticas: para todas as análises estatísticas, confirme se os seguintes itens estão presentes na legenda da figura, legenda da tabela, texto principal ou seção “métodos”.

- **Confirmados:**
 - O tamanho exato da amostra (n) para cada grupo/condição experimental,

dado como um número discreto e unidade de medida.

- Uma declaração sobre se foram realizadas medições de amostras distintas ou se a mesma amostra foi mensurada repetidamente.
- O(s) teste(s) estatístico(s) utilizado(s) e se são unilaterais ou bilaterais. [Somente testes comuns devem ser descritos exclusivamente pelo nome; descreva técnicas mais complexas na seção “métodos”.]
- Uma descrição completa dos parâmetros estatísticos, incluindo tendência central (por exemplo, médias) ou outras estimativas básicas (por exemplo, coeficiente de regressão) e variação (por exemplo,

desvio padrão) ou estimativas associadas de incerteza (por exemplo, intervalos de confiança).

- **Não questionados:**

- Uma descrição de todas as covariáveis testadas.
- Uma descrição de quaisquer suposições ou correções, como testes de normalidade e ajuste para múltiplas comparações.
- Para testes de hipótese nula, a estatística do teste (por exemplo, F, t, r) com intervalos de confiança, tamanhos de efeito, graus de liberdade e valores P observados. [Dê valores P como valores exatos sempre que adequado.]
- Para análise bayesiana, informações sobre a escolha de priores e configurações de Monte Carlo da cadeia de Markov.
- Para projetos hierárquicos e complexos, identificação do nível apropriado para testes e relatório completo dos resultados.
- Estimativas dos tamanhos dos efeitos (por exemplo, d de Cohen, r de Pearson), indicando como eles foram calculados.

Software e código: informações sobre disponibilidade de códigos de computador.

- Coleta de dados: nenhum software comercial, de código aberto, código personalizado foi utilizado na coleta de dados.
- Análise dos dados: as análises estatísticas foram realizadas no software R, versão 3.6.0.

Para manuscritos que utilizaram algoritmos ou *software* personalizados que são centrais para a pesquisa, mas que ainda não foram descritos na literatura publicada, o software deve ser disponibilizado aos editores/revisores. Recomendamos fortemente a deposição de código em um repositório da comunidade (por exemplo, GitHub).

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

Consulte as diretrizes de pesquisa da Nature para enviar código e software para obter mais informações.

Dados: informações sobre políticas de disponibilidade de dados.

Todos os manuscritos devem incluir uma declaração de disponibilidade de dados. Esta declaração deve fornecer as seguintes informações, quando aplicável:

- Códigos de acesso, identificadores exclusivos ou links da web para conjuntos de dados disponíveis ao público.
- Uma lista de figuras que associaram dados brutos.
- Uma descrição de quaisquer restrições à disponibilidade de dados.

Os dados brutos deste estudo são fornecidos no conjunto de dados suplementares. Dados adicionais de suporte estão disponíveis pelos autores correspondentes, mediante solicitação. Todas as solicitações de dados e materiais brutos e analisados serão revisados pelos autores correspondentes para verificar se a solicitação está sujeita a qualquer propriedade intelectual ou obrigações de confidencialidade.

RELATÓRIOS ESPECÍFICOS DE CAMPO

Selecione o que melhor se adapta à sua pesquisa = *ciências da vida*.

DESIGN DOS ESTUDOS DE CIÊNCIAS DA VIDA

Todos os estudos devem divulgar esses pontos, mesmo quando a divulgação for negativa.

- Tamanho da amostra: não realizamos análises estatísticas para predeterminar o tamanho da amostra. Até 12 de fevereiro de 2020, um total de 426 pacientes com COVID-19 confirmados foram admitidos em três hospitais designados. 124 pacientes relutaram em oferecer suas amostras de sangue, enquanto 17 amostras de 17 pacientes não estão qualificadas para testes sorológicos (hemólise, lipemia). Portanto, 285

pacientes com COVID-19 foram incluídos neste estudo.

- Exclusões de dados: todos os pacientes e soros foram incluídos.
- Replicação: as experiências de precisão e reprodutibilidade foram conduzidas em triplicado e duplicado. O ensaio imunoenzimático por quimioluminescência magnética (MCLIA) para detecção de anticorpos específicos para vírus foi provado com precisão e reprodutibilidade admiráveis. O título de anticorpos foi testado uma vez para cada amostra de soro em nosso estudo.
- Randomização: nosso estudo é um estudo de observação, portanto, nenhuma randomização é necessária.
- Cegamento: a extração sérica e a detecção de anticorpos foram realizadas independentemente por pesquisadores cegos para as informações das amostras, a análise dos dados foi realizada por dois pesquisadores treinados.

RELATÓRIOS PARA MATERIAIS, SISTEMAS E MÉTODOS ESPECÍFICOS

Exigimos informações dos autores sobre alguns tipos de materiais, sistemas experimentais e métodos utilizados em muitos estudos. Aqui, indique se cada material, sistema ou método listado é relevante para o seu estudo.

Materiais e sistemas experimentais:

- **Envolvidos no estudo:** anticorpos e pesquisa em seres humanos.
- **Não envolvidos:** células eucarióticas; paleontologia; animais e outros organismos; e dados clínicos.

Métodos:

- **Não envolvidos:** ChIP-seq; citometria de fluxo; e neuroimagem baseada em ressonância magnética.

ANTICORPOS

- **Anticorpos utilizados:** IgG anti-humano de cabra Affinipure conjugado com fosfatase alcalina; número de catálogo: SA00002-8, Proteintech.
- **Validação:** o anticorpo foi utilizado apenas para a aplicação conforme indicado e organismos verificados pelos fabricantes.

PESQUISA EM SERES HUMANOS

Informações políticas sobre estudos envolvendo seres humanos.

- **Características populacionais:** para a coorte transversal, a idade mediana foi 47 anos, variando de 7 meses a 84 anos, e 158 dos 285 eram do sexo masculino. Para a coorte de acompanhamento, a idade mediana foi 49 anos, variando de 11 a 84 anos, e 36 de 63 eram do sexo masculino.
- **Recrutamento:**
 - Pacientes com COVID-19 confirmados (dois resultados positivos de RT-PCR de amostras de *swab* nasal e faríngeo).
 - Os pacientes foram recrutados em três hospitais designados na cidade de Chongqing, China.
 - Os pacientes concordaram em ser inscritos
- **Supervisão ética:** Universidade Médica de Chongqing.

Observe que informações completas sobre a aprovação do protocolo do estudo também devem ser fornecidas no manuscrito.

Traduzido por¹: Alessandra Antonioli, Luís Fernando Rafalski Pereira, Pablo Guarisco Ferreira
Supervisão²: Dra. Patricia Leen Kosako

1. Acadêmicos de Medicina da Universidade Federal do Paraná (UFPR), campus Toledo.
2. Professor do curso de Medicina da UFPR, campus Toledo.