

Silva DRC^{1,2}, Meira DD², Zetum ASS², Vargas EN¹, Batista LS^{1,2}, Silva HN¹, Ventorim VDP², Rosa HP³, Alves LNR², Louro ID².

1 Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia Marcos Daniel Santos (HEMOES)

2 Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

3 Universidade Vila Velha (UVV)

INTRODUÇÃO/OBJETIVOS

A COVID-19 impôs restrições científicas afetando a condução de pesquisas em laboratórios¹. Apesar dessas adversidades, a resposta da comunidade científica à pandemia foi notável. Este trabalho visa destacar os desafios superados na captação de participantes para uma pesquisa sobre COVID-19 após alta hospitalar, avaliando sua patogênese e aspectos hemostáticos, imunológicos, inflamatórios e moleculares.

MATERIAIS E MÉTODOS

Parcerias foram estabelecidas para acesso aos prontuários médicos de dois hospitais na região metropolitana da Grande Vitória, um público, Hospital dos Santos Neves (HPU) e outro privado, Centro Integrado de Atenção à Saúde, CIAS, um Hospital da Unimed (HPR).

Critérios de seleção: sobreviventes de COVID-19 confirmados por RT-PCR, 18-65 anos, internados (Enfermaria/UTI), >= 30 dias pós infecção e não vacinados.

Os voluntários foram contatados por **ligação** e mensagens via **WhatsApp**.

Os participantes assinaram termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE), responderam um questionário e tiveram amostras de sangue coletadas.

A pesquisa recebeu aprovação do Comitê de Ética da Universidade Federal do Espírito Santo (**número CAEE 37094020.6.0000.5060**)

RESULTADOS

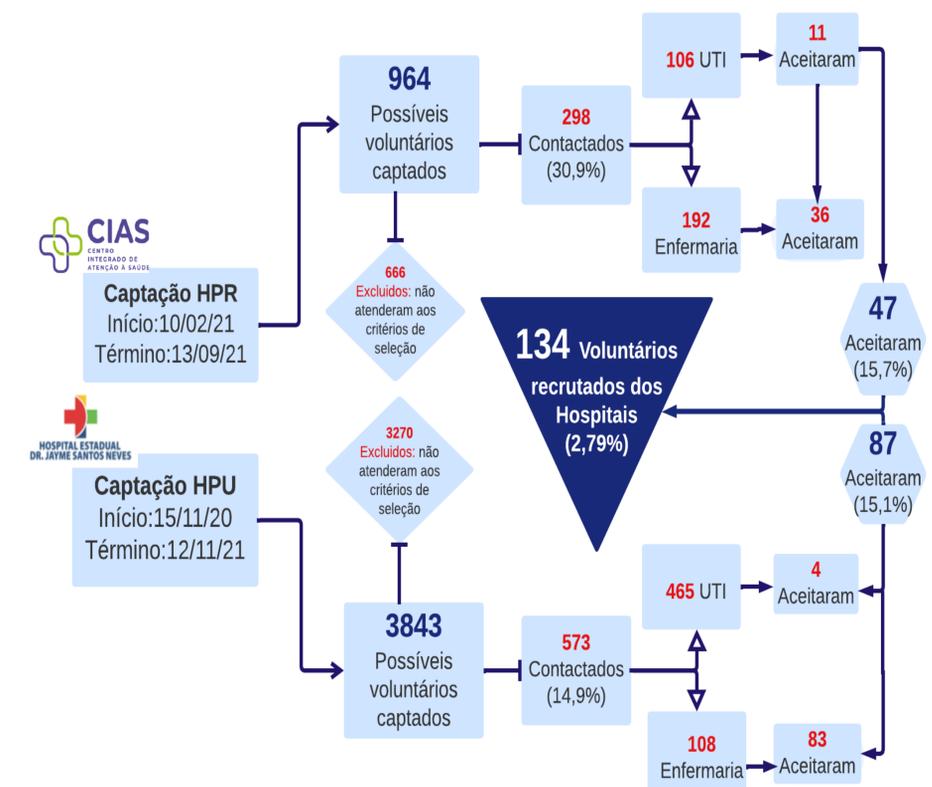


Figura 1: Fluxograma da captação

DISCUSSÃO



Figura 2: Relação entre os desafios e as soluções encontradas

CONCLUSÃO

A captação de pacientes exigiu uma abordagem adaptável para superar os desafios impostos pela pandemia. Soluções inovadoras e a conscientização sobre a importância da ciência e da participação da população foram fundamentais para o avanço no entendimento e na resposta à essa complexa crise de saúde global, que foi a COVID-19.

AGRADECIMENTOS



REFERÊNCIAS

- Hanney, S.R., Straus, S.E. & Holmes, B.J. Saving millions of lives but some resources squandered: emerging lessons from health research system pandemic achievements and challenges. *Health Res Policy Sys* 20, 99 (2022). <https://doi.org/10.1186/s12961-022-00883-6>
- SOHRABI, Catrin et al. Impact of the coronavirus (COVID-19) pandemic on scientific research and implications for clinical academic training—a review. *International Journal of Surgery*, v. 86, p. 57-63, 2021.

CONTATO

Danielle Ribeiro Campos da Silva
 E-mail: drcsilva@hotmail.com
hemoes.hemostasia@saude.es.gov.br

Silva DRC^{1,2}, Meira DD², Zetum ASS², Vargas EN¹, Batista LS^{1,2}, Silva HN¹, Ventorim VDP², Rosa HP³, Casotti MC², Louro ID²

1 Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia Marcos Daniel Santos (HEMOES)

2 Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

3 Universidade Vila Velha (UVV)

MATERIAIS E MÉTODOS

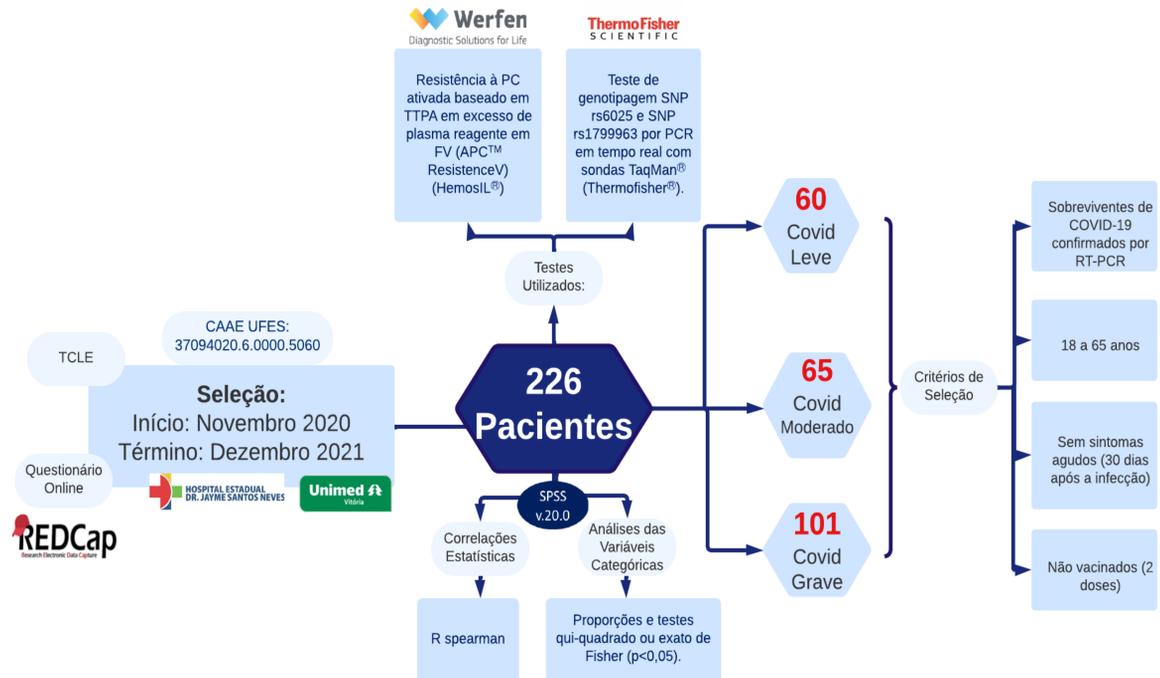


Figura 1: Resumo da metodologia de pesquisa

INTRODUÇÃO

A coagulopatia associada à infecção por COVID-19 despertou o interesse de investigar as mutações do Gene *FV* (FV de Leiden) e o Gene *FII* (Protrombina), associados à trombofilia, em pacientes infectados por SARS-Cov-2^{1,2}.

OBJETIVOS

Avaliar a correlação entre o teste de Resistência à Proteína C Ativada (APCR) e o FV de Leiden por biologia molecular em voluntários que tiveram COVID-19 e possível associação dos SNPs (Single Nucleotide Polymorphism) rs6025 (1691G>A) e rs1799963 (20210G>A) com a severidade da doença.

RESULTADOS

A correlação entre o SNP rs6025 e o teste APCTM ResistenceV apresentaram um valor significativo de $P=0,003^{**}$ (Tabela 1). Entretanto, a presença dos polimorfismos estudados do *FV* e *FII* foram consideradas não significativas entre os grupos de voluntários que tiveram COVID-19 Leve, Moderado e Grave² (Tabela 2).

Tabela 1: Correlação entre o ensaio funcional APCR e a genotipagem SNP rs6025

	R spearman (95%CI)	P valor*
FV Leiden (SNP rs 6025) vs APC TM Resistence V (ratio)	-0,1983 (-0,3240 à -0,0657)	0,003**

*Correlação R sperman, significativo se $p \leq 0,05$.

**A correlação é significativa no nível 0,01 (bicaudal)

Tabela 2: Associação dos SNPs com a severidade da COVID-19

SNP	Severidade da COVID-19 n=226			P Valor*	
	Leve n (%)	Moderado n (%)	Grave n (%)		
FV LEIDEN (rs6025)	C/C	59 (98,3)	64 (98,5)	100 (99,7)	0,922
	C/T	1 (1,0)	1 (1,7)	1 (1,5)	
MUTAÇÃO DA PROTROMBINA (rs1799963)	G/G	58 (96,7)	64 (98,5)	98 (97,0)	0,795
	G/A	2 (3,3)	1 (1,5)	3 (3,0)	

* Teste Exato de Fischer, significativo se $p \leq 0,05$

DISCUSSÃO

Diversos trabalhos abordam a correlação entre os ensaios plasmáticos funcionais (APCR) e a genotipagem do SNP rs6025⁴.

Este trabalho corrobora os estudos anteriores e exalta a maior viabilidade da implantação do ensaio funcional em um número maior de laboratórios clínicos^{4,5,6}.

Em nossa coorte, não encontramos diferenças estatísticas significativas entre os grupos estudados, sugerindo que a mutação não foi um fator preditivo para a gravidade da doença. Possíveis causas Figura 2.



Figura 2: Possíveis causas para os polimorfismos dos genes relacionados à trombofilia estudados não estarem associados à severidade da COVID-19.

REFERÊNCIAS

- CAMPELLO E, SPIEZIA L, ADAMO A, SIMIONI P. Thrombophilia, risk factors and prevention. Expert Rev Hematol. 2019;12(3):147-158
- NEVES, R. A.; BORGES, M. A.; BARROS, G. E. de L. ESTADO DE COAGULAÇÃO EM PACIENTES INFECTADOS PELO SARS-COV-2: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA. Revista EVS - Revista de Ciências Ambientais e Saúde, v. 48, n. 1, p. 9047, 20 jan. 2022. Acesso em: 31 jul. 2023.
- Information on COVID-19 Treatment, Prevention and Research [Internet]. COVID-19 Treatment Guidelines. Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>
- Morimont L, Donis N, Bouvy C, Mullier F, Dogné JM, Douxfils J. Laboratory Testing for the Evaluation of Phenotypic Activated Protein C Resistance. Semin Thromb Hemost. 2022 Sep;48(6):680-689. doi: 10.1055/s-0042-1758162. Epub 2022 Oct 12. PMID: 36223771.
- Jilma-Stohlawetz P, Lysy K, Sunder-Plassmann R, Belik S, Jilma B, Pabinger I, Quehenberger P. Limitations of a calibrated, quantitative APC-R assay under routine conditions. Int J Lab Hematol. 2021 Apr;43(2):318-323. doi: 10.1111/ijlh.13378. Epub 2020 Nov 1. PMID: 33131213.
- Badulescu OV, Sirbu PD, Filip N, Bordeianu G, Cojocaru E, Budacu CC, Badescu MC, Bararu-Bojan I, Veliceasa B, Ciocoiu M. Hereditary Thrombophilia in the Era of COVID-19. Healthcare (Basel). 2022 May 27;10(6):993. doi: 10.3390/healthcare10060993. PMID: 35742044; PMCID: PMC9223139.

CONCLUSÃO

Nossos achados reforçam a correlação entre a genotipagem do SNP rs6025 e o APCR, podendo o teste funcional ser uma alternativa viável dos laboratórios clínicos na investigação de pacientes com histórico de trombofilia^{4,5,6}. Não é descartada a necessidade da genotipagem do SNP rs6025, uma vez que resultados borderline do teste funcional podem induzir a um erro de diagnóstico ou outro tipo de polimorfismo de menor impacto. Embora as mutações dos genes *FV* (1691G>A) e *FII* (20210G>A) não tenham sido um fator preditivo para a gravidade da doença, nosso estudo contribui para o entendimento da possível influência genética da trombofilia relacionada à severidade da doença.

AGRADECIMENTOS

ICEPI
Instituto Capixaba de Ensino Pesquisa e Inovação em Saúde

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

GOVERNO FEDERAL
UNIAO E RECONSTRUÇÃO

FAPES
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA E INOVAÇÃO DO ESPÍRITO SANTO

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONTATO

Danielle Ribeiro Campos da Silva

E-mail: hemoes.hemostasia@saude.es.gov.br

drcsilva@hotmail.com

Silva DRC^{1,2}, Meira DD², Zetum ASS², Vargas EN¹, Silveira LB², Silva HN¹, Ventorim VDP², Rosa HP³, Casotti MC², Louro ID²

1 Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia Marcos Daniel Santos (HEMOES)

2 Universidade Federal do Espírito Santo (UFES)

3 Universidade Vila Velha (UVV)

INTRODUÇÃO / OBJETIVOS

A detecção de Anticoagulante Lúpico/Anticorpos antifosfolípedes (AL/aPL) em pacientes com COVID-19 grave levanta questões sobre o papel desses anticorpos nos distúrbios de coagulação observados durante a infecção e sua permanência após o contágio¹.

O objetivo desse trabalho é associar a presença de AL/aPL na fase de convalescença em voluntários que tiveram COVID-19 com o nível de severidade da doença na fase aguda e avaliar a permanência desses anticorpos por até 6 meses nos grupos Moderados (M) e Graves (G).

MATERIAIS E MÉTODOS



Figura 1: Resumo da metodologia de pesquisa³

RESULTADOS

A presença de AL/aPL na primeira convocação mostrou uma associação significativa com a gravidade da COVID-19 entre os grupos ($p < 0,05$), **tabela 1**. Dos 35 participantes dos grupos Grave/Moderado que positivaram para algum marcador de AL/aPL. Desses, 24 compareceram após 6 meses e 9 (37,5%) permaneceram positivos (**figura 1**). Outros 18 participantes também reconvocados para monitoramento de diversos parâmetros, mantiveram os resultados negativos para pesquisa de AL/aPL após 6 meses. Os resultados indicam uma associação significativa ($p < 0,05$) entre o tempo e a probabilidade de testar positivo ou negativo para AL/aPL (**tabela 2**).

Tabela 1: Associação da gravidade da doença e a presença de AL/aPL na primeira coleta.

		Severidade da COVID-19			P Valor*
		LEVE n=65	MOD n=60	GRAVE n=101	
AL/aPL	NEGATIVO	57 (95,0%)	53 (81,5%)	78 (77,2%)	0,013
	POSITIVO	3 (5,0%)	12 (28,5%)	23 (22,8%)	

* Teste do qui-quadrado de aderência; significativo se $p \leq 0,05$

Tabela 2: Associação entre o tempo e a probabilidade de testar positivo ou negativo para AL/aPL

		AL/aPL Segundo Exame (Pós 6 meses)			P Valor*
		NEGATIVO	POSITIVO		
AL/aPL Primeiro exame	NEGATIVO	18 (54,5%)	0 (0,0%)	<0,001	
	POSITIVO	15 (45,5%)	9 (100,0%)		

* Teste do qui-quadrado de McNemar; significativo se $p \leq 0,05$

DISCUSSÃO

Mais de 60% dos participantes testados positivo normalizaram os resultados em até 6 meses, entretanto, é alta a taxa de permanência de alguma positividade.

Normalização dos AL/aPL após 3 meses⁴

Importância clínica?⁵

Maiores probabilidades de desenvolver trombose em uma nova reinfeção ou patologia⁵

CONCLUSÃO

Foi observado a presença significativa de positividade de algum marcador para AL/aPL nos grupos de maior gravidade para a COVID-19 e sua permanência em até 6 meses. Apesar da alta incidência de aPL na fase aguda da doença, poucos estudos se concentram no acompanhamento desses pacientes, destacando a importância de trabalhos nessa área.

REFERÊNCIAS

- Xiao M et al. Antiphospholipid Antibodies in Critically Ill Patients With COVID-19. *Arthritis & Rheumatology*. 2020;
- Information on COVID-19 Treatment, Prevention and Research [Internet]. COVID-19 Treatment Guidelines. Available from: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. Access date: August 04, 2023;
- Devreese KJM et al. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost*. 2020;
- Vollmer O et al. Follow-up of COVID-19 patients: LA is transient but other aPLs are persistent. *Autoimmun Rev*. 2021;
- Fort T et al. Systematic Review of Antiphospholipid Antibodies in COVID-19 Patients: Culprits or Bystanders? *Current Rheumatology Reports*. 2021.

AGRADECIMENTOS

ICEPI
Instituto Capixaba de Ensino Pesquisa e Inovação em Saúde

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO

GOVERNO FEDERAL
BRAZIL
UNIÃO E RECONSTRUÇÃO

FAPES
FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA E INOVAÇÃO DO ESPÍRITO SANTO

CNPq
Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

CONTATO

Danielle Ribeiro Campos da Silva

E-mail: hemoes.hemostasia@saude.es.gov.br

drcsilva@hotmail.com