

**UNIVERSIDADE BRASIL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA BIOMÉDICA**  
**CAMPUS SÃO PAULO**

**NARA MAGALHÃES CARVALHO**

**PRESENÇA DE ANTI-SARS-CoV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS  
VACINAÇÃO**

**PRESENCE OF ANTI-SARS-CoV-2 IN PASTEURIZED HUMAN MILK AFTER  
VACCINATION**

São Paulo - SP

2024

---

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA BIOMÉDICA

**NARA MAGALHÃES CARVALHO**

**PRESENÇA DE ANTI-SARS-CoV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS  
VACINAÇÃO**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Engenharia Biomédica.

**Orientadora:** Prof(a). Dr(a). Fernanda Roberta Marciano

SÃO PAULO – SP

2024

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Bibliotecas da Universidade Brasil,  
com os dados fornecidos pelo (a) autor (a).**

C326p CARVALHO, Nara Magalhães.  
Presença de Anti-SARS-CoV-2 no leite humano pasteurizado após  
vacinação: Anti-SARS-CoV-2 no leite humano pasteurizado / Nara  
Magalhães Carvalho -- São Paulo: Universidade Brasil, 2024.  
76 f. il. color.

Tese de doutorado defendida no Programa de Pós-graduação do Curso  
de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil.

Orientação: Profa. Dra. Fernanda Roberta Marciano.

1. Covid-19. 2. Anticorpos. 3. Leite materno. I. Marciano, Fernanda  
Roberta. II. Título.

CDD 620.82

## TERMO DE APROVAÇÃO

CARVALHO, Nara Magalhães

“Presença de Anti-SARS-CoV-2 no leite humano pasteurizado após vacinação”.

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, para a obtenção do título de Doutor (a) em Engenharia Biomédica.

Aprovado em 12/12/2024

Tese aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Doutorado em Programa de Pós-Graduação em Engenharia Biomédica da Universidade Brasil, pela seguinte banca examinadora:

Membros da banca:

Orientador (a): Fernanda Roberta Marciano


Membro interno: Carla Roberta Tim

Membro interno: Priscila Pereira Fávero

Membro externo: Francílio de Carvalho Oliveira

Membro externo: Adriana Pavinnatto da Costa


Orientador(a): Fernanda Roberta Marciano

Documento assinado digitalmente  
 FERNANDA ROBERTA MARCIANO  
Data: 12/12/2024 17:52:56-0300  
Verifique em <https://validar.itl.gov.br>

---

Assinatura do membro


Membro interno: Carla Roberta Tim

Documento assinado digitalmente  
 CARLA ROBERTA TIM  
Data: 13/12/2024 14:55:24-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro


Membro interno: Priscila Pereira Favero

Documento assinado digitalmente  
 PRISCILA PEREIRA FAVERO  
Data: 14/12/2024 11:35:45-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro


Membro externo: Francílio de Carvalho Oliveira

Documento assinado digitalmente  
 FRANCILIO DE CARVALHO OLIVEIRA  
Data: 16/12/2024 08:35:10-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro

Membro externo: Adriana Pavinnatto da Costa

Documento assinado digitalmente  
 ADRIANA PAVINATTO DA COSTA  
Data: 13/12/2024 12:01:32-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro

“AUMENTO DE ANTI-SARS-CoV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS  
VACINAÇÃO”

Houve alteração do título da dissertação da defesa de tese?

- Sim  
 Não

PRESENÇA DE ANTI-SARS-CoV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS  
VACINAÇÃO

São Paulo, 12 de dezembro de 2024

Presidente da Banca: Fernanda Roberta Marciano

## TERMO DE AUTORIZAÇÃO

Para Publicação de Dissertações e Teses no Formato Eletrônico do Respetivo Programa da Universidade Brasil e no Banco de Teses da CAPES.

Na qualidade de titular(es) dos direitos de autor da publicação, e de acordo com a Portaria CAPES no.13, de 15 de fevereiro de 2006, autorizo(amos) a Universidade Brasil a disponibilizar através do site <http://www.universidadebrasil.edu.br>, na página do respectivo Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu, bem como no Banco de Dissertações e Teses da CAPES, através do site <http://bancodeteses.capes.gov.br>, a versão digital do texto integral da Dissertação/Tese abaixo citada, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira. A utilização do conteúdo deste texto, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, fica condicionada à citação da fonte.

INTITULADO: AUMENTO DE ANTI-SARS-COV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS VACINAÇÃO

Houve alteração do título da dissertação da defesa de tese?


Sim

Não

PRESENÇA DE ANTI-SARS-COV-2 NO LEITE HUMANO PASTEURIZADO APÓS VACINAÇÃO

Autores


Discente: Nara Magalhães Carvalho

Documento assinado digitalmente  
 NARA MAGALHAES CARVALHO  
Data: 16/12/2024 13:55:50-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro

Orientador(a): Fernanda Roberta Marciano

Documento assinado digitalmente  
 FERNANDA ROBERTA MARCIANO  
Data: 12/12/2024 17:52:56-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Assinatura do membro

São Paulo, 12 de dezembro de 2024.

## **DEDICATÓRIA**

A Deus. Meus pais, Francisco das Chagas (in memoriam) e Aracelli, incansáveis incentivadores do saber. A meu esposo, filho, irmãs, amigos, orientadores e pesquisadores pelo apoio incondicional. Sem eles nada disso seria possível.

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por iluminar nossa caminhada, conceder o fortalecimento, e a coragem necessária para superar as dificuldades, e seguir.

À Universidade Brasil e a toda a equipe do Doutorado do Programa de Pós-graduação em Engenharia Biomédica pela acolhida, disponibilidade, e oportunidade destes anos de estudo e poder contribuir para uma formação humana, mais capaz.

À minha orientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Fernanda Roberta Marciano, por seu apoio e amizade, exemplo de ser humano, fonte de serenidade frente aos obstáculos, o apoio para prosseguir, além de sua dedicação, disponibilidade, competência, paciência, resolutividade, inteligência e contribuições fundamentais para o desenvolvimento dessa pesquisa.

À Coordenação do doutorado do Programa de Engenharia Biomédica da Universidade Brasil por ter concedido a realização dessa pesquisa e pela resolutividade diante dos percalços, e em especial ao brilhante coordenador Airton (in memoriam) por ter sido um grande facilitador do aprendizado e impulsionador do ensino.

À Maternidade Dona Evangelina Rosa, em especial à Vanessa Paz Moura e toda a equipe do Banco de Leite dessa maternidade por terem concedido a realização dessa pesquisa, como também pelo acolhimento, dedicação, orientações, compromisso e profissionalismo no desempenho de suas atividades, contribuindo de forma essencial para a concretização desse estudo.

À Coordenação do Laboratório de Virologia Clínica Molecular da Universidade de São Paulo (USP/SP), em especial à Dr<sup>a</sup> Danielle Bruna Leal de Oliveira e Ralyria



Mello Vieira dos Santos por terem concedido essa pesquisa e facilitado toda a logística para a realização das análises das amostras nesse laboratório, desde o acolhimento, apoio, oportunidade, orientações e prática quanto ao uso técnica de ELISA, dedicação e competência, fundamentais para a materialização desse estudo.

Às mulheres participantes dessa pesquisa pelo ato de serem doadoras de leite humano e pela gentileza de aceitarem contribuir com esse estudo.

Ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia pelo incentivo a qualificação, em especial aos colegas do DESAU/CATCE pelo apoio.

À Diretora da Atenção Básica da Fundação Municipal de Saúde de Teresina, Piauí, Nádia Maria Santos Spíndola Miranda, à Coordenadora da Regional Sul de Saúde, Midian Viana Dias e ao Diretor de planejamento, Eduardo Lima pelo apoio.

Aos Apoiadores Institucionais da Fundação Municipal de Saúde Ozirina Maria da Costa e Cristhian, como também à farmacêutica Symonara Karina Medeiros Faustino da Silva por terem sido facilitadores para a realização dessa pesquisa.

Às minhas irmãs e toda a família, a qual amo muito, pelo carinho, companheirismo, força e torcida. Em especial ao meu marido Raphael M. Magalhães Meneses e ao meu filho Rafael Levi Magalhães Carvalho Meneses, por compreenderem minhas ausências e serem grandes incentivadores.

Ao meu pai Francisco das Chagas Carvalho (in memoriam) e à minha querida mãe Maria Aracelli de Brito Magalhães Carvalho por terem sido luz na caminhada, por sempre acreditarem no potencial da sua filha e por terem sido facilitadores do ensino, além de serem a base para o alcance de todas as conquistas e valores de vida.

A todos os amigos e colegas por tornarem a vida mais leve e feliz.

A todos os colegas, amigos e docentes da Pós-Graduação do Doutorado em Engenharia Biomédica pela convivência, ensinamentos, orientações, paciência e oportunidade de aprendizado.

A todos que contribuíram direta e indiretamente para a concretização dessa pesquisa.

*“Que nada te perturbe  
nada te amedronte.  
Tudo passa.  
A paciência tudo alcança...  
a quem tem Deus  
nada falta.  
Só Deus basta”*

(SANTA TERESA D'AVILA)

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo investigar a presença de anticorpos IgA e IgG, específicos para a Síndrome Respiratória Aguda (SARS-CoV-2), no leite humano de 103 lactantes submetidas ao Esquema Vacinal Primário (EVP) antes ou durante a gravidez ou após o parto. Foram avaliadas a influência da pasteurização no leite humano, da quantidade de doses de vacinas recebidas e dos aspectos econômicos da mãe. As amostras foram coletadas e armazenadas no banco de leite público, na cidade de Teresina/PI, submetidas à pasteurização (aquecidas a temperatura de 62,5 °C e resfriadas a 5 °C e analisadas por ensaios imunoenzimáticos. As amostras foram divididas em dois grupos: grupo observacional (GO) com 83/103 (80,5%) e grupo controle (GC) com 20/103 (19,5%) amostras. Resultados: No Grupo observacional, 52% (43/83) foram positivas para IgA. Observou-se que entre as positivas 30/43 (70%) eram lactantes que fizeram Esquema Vacinal Primário antes da gravidez e 13 (30%) fizeram Esquema Vacinal Primário durante a gravidez ou após o parto. Não foram identificadas amostras positivas para IgG no Grupo Observacional. No Grupo Controle, 20/103 amostras foram avaliadas antes do processo de pasteurização, ou seja, Leite Humano Cru (LHC), e as mesmas amostras foram avaliadas após a pasteurização (LHP). No Leite Humano Cru (LHC), 11/20 (55%) foram positivos para IgA e 3/20 (15%) foram inconclusivos para IgA e IgG. No grupo controle não houve diferença estatística entre os resultados positivos para anticorpos específicos no Leite Humano Cru e Pasteurizado. Conclusão: Houve predomínio da presença de IgA anti-SARS-CoV-2 no leite humano entre as mulheres que realizaram o Esquema Vacinal Primário antes da gestação, com maior nível de IgA entre aquelas que fizeram o Esquema Vacinal Completo com quatro doses antes do parto. Não foi observado correlações do conteúdo de IgA e as condições econômicas da mãe.

**Palavras-chave:** Covid-19; Anticorpos; Leite materno.

## ABSTRACT

This study aimed to investigate the presence of IgA and IgG antibodies, specific for Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS-CoV-2), in human milk from 103 lactating women submitted to the Primary Vaccination Scheme (PVS) before or during pregnancy or after delivery. The influence of pasteurization on human milk, the number of vaccine doses received and the economic aspects of the mother were evaluated. The samples were collected and stored in the public milk bank in the city of Teresina/PI, subjected to pasteurization (heated to a temperature of 62.5 °C and cooled to 5 °C and analyzed by immunoenzymatic assays. The samples were divided into two groups: observational group (OG) with 83/103 (80.5%) and control group (CG) with 20/103 (19.5%) samples. Results: In the observational group, 52% (43/83) were positive for IgA. It was observed that among the positive ones, 30/43 (70%) were lactating women who had undergone the Primary Vaccination Scheme before pregnancy and 13 (30%) had undergone the Primary Vaccination Scheme during pregnancy or after delivery. No positive samples for IgG were identified in the Observational Group. In the Control Group, 20/103 samples were evaluated before the pasteurization process, that is, Raw Human Milk (RBM), and the same samples were evaluated after pasteurization (PBM). In Raw Human Milk (RBM), 11/20 (55%) were positive for IgA and 3/20 (15%) were inconclusive for IgA and IgG. In the control group, there was no statistical difference between the positive results for specific antibodies in Raw and Pasteurized Human Milk. Conclusion: There was a predominance of the presence of anti-SARS-CoV-2 IgA in human milk among women who underwent the Primary Vaccination Schedule before pregnancy, with a higher level of IgA among those who underwent the Complete Vaccination Schedule with four doses before delivery. No correlations were observed between IgA content and the mother's economic conditions.

**Descriptors:** Covid-19; Antibodies; Breast milk.

## **DIVULGAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CONHECIMENTO**

Esse estudo tem seu caráter inédito e trouxe como objetivo investigar a presença de anticorpos IgA e IgG específicos para SARS-CoV-2 no leite materno de mulheres submetidas a esquemas vacinais primário antes, durante a gravidez ou no período pós-parto. Também foram avaliadas a influência da pasteurização do leite, da quantidade de doses de vacina recebidas e dos aspectos econômicos da mãe. As amostras de leite humano foram coletadas e processadas no Banco de Leite Humano de uma maternidade pública do Piauí, e analisadas no laboratório de virologia clínica molecular, localizado na USP/São Paulo, no qual foram realizados ensaios imunoenzimáticos. Assim, os achados desse estudo, se fazem necessários para promover o embasamento científico, promover reflexões sobre os efeitos da vacinação nas gestantes e lactantes, incentivar o aleitamento materno, e ampliar os números de doações de leite humano aos bancos de leite, além de contribuir para minimizar a morbimortalidade neonatal pela doença, haja vista a propensão das lactantes à infecção da Covid-19 e o risco de contágio do recém-nascido e suas repercussões.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1- Imagem do kit comercial EUROIMMUN anti-SARS-CoV-2 IgA .....	39
Figura 2- Imagem da bancada preparada com microtubos .....	39
Figura 3 - Imagem das placas organizadas.....	40
Figura 4 – Fluxograma.....	43
Figura 5 – Nível de imunoglobulinas IgG e IgA.....	45
Figura 6 – Valores de Anti SARS-CoV IgA no leite humano após a pasteurização (Grupo Observacional) .....	47
Figura 7 – Níveis de IgA e as fases do leite humano.....	48
Figura 8 - Placas com sinalização de anti-SARS-CoV IgAs.....	49
Figura 9 - Placas com evidências de anti-SARS-CoV-2 IgGs.....	50
Figura 10 - Tempo decorrido da segunda dose até o parto e IgA.....	51
Figura 11 - Número de doses e níveis de produção IgA.....	52
Figura 12 – Renda média e IgA .....	53

## LISTAS DE TABELAS

Tabela 1 – Características das lactantes participantes no estudo.....	44
Tabela 2 – Fases do LH e valores de Anti-SARS-CoV IgA no LHC e LHP (Grupo controle) .....	46
Tabela 3 – Valores de P (Comparação entre as diferentes fases de leite materno.....	48
Tabela 4 – Valores de P (Comparação entre os diferentes números de doses de vacinas aplicadas contra Covid – 19).....	52



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Covid-19 – Doença (Co)rona(ví)rus

OMS – Organização Mundial da Saúde

ELISA – Teste imunoenzimático (*Enzyme Linked Immunosobent Assay*)

HPP – Pasteurização por alta pressão (*High Pressure Processing*)

IgA – Imunoglobulina A

IgG – Imunoglobulina G

LH – Leite humano

LHP – Leite humano pasteurizado

LHC – Leite humano cru

LVCM – Laboratório de Virologia Clínica Molecular

SARS-CoV-2 – Síndrome Respiratória Aguda Grave do novo Coronavírus

sIgA – Imunoglobulina A secretora

SI-PNI – Sistema de informação do programa nacional de imunização

rBLH-Br – Rede Brasileira de Banco de Leite Humano

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

Fc – Fragmento Cristalizado

FcRn – Fragmento cristalizado em neonato

RT-PCR – Transcrição reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase

EDTA - Ácido Etilendiaminotetraacético

## LISTA DE SÍMBOLOS

°C - Grau Celsius

μl - Microlitros

nm - Nanômetro

N - Normalidade

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	22
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	23
3.1 ALEITAMENTO MATERNO.....	25
3.2 FATORES PROTETORES DO LEITE HUMANO.....	27
3.3 REPERCUSSÕES EM RN INFECTADOS PELO NOVO CORONAVÍRUS.....	29
3.4 PASTEURIZAÇÃO.....	31
<b>4 METODOLOGIA</b> .....	33
4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	34
4.2 COLETA DAS AMOSTRAS PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS.....	34
4.3 TÉCNICA DE PASTEURIZAÇÃO.....	35
<b>4.3.1 Monitoramento do processo</b> .....	36
<b>4.3.2 Aferição do equipamento</b> .....	36
4.4 PARTICIPANTES DA PESQUISA.....	36
4.5 AMOSTRAGEM.....	37
4.6 ANÁLISE DAS AMOSTRAS.....	38
<b>4.6.1 Ensaio de elisa para detecção de IgA</b> .....	38
<b>4.6.2 Ensaio de elisa para detecção de IgG</b> .....	41
4.7 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	42
4.8 ANÁLISE DOS DADOS.....	42
<b>5 RESULTADOS</b> .....	43



<b>6 DISCUSSÃO</b> .....	54
6.1. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS.....	57
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	62
<b>APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO</b> .....	67
<b>APÊNDICE B - INSTRUMENTO DE PESQUISA</b> .....	69
<b>ANEXO A – TERMO DE ANUENCIA</b> .....	71
<b>ANEXO B – PARECER DE APROVAÇÃO DO CEP</b> .....	72



## 1 INTRODUÇÃO

Conforme a Organização Mundial de Saúde (OMS), a imunização é o processo pelo qual uma pessoa se torna resistente a uma doença. A imunidade pode ser ativa naturalmente, o que ocorre através do contato com certas doenças, ou induzida por vacinas. As vacinas estimulam o sistema imunológico de um indivíduo a produzir anticorpos específicos contra patógenos. Uma das principais causas de morbidade e mortalidade infantil são as doenças infecciosas. O leite materno humano constitui anticorpos que atuarão nas defesas dos recém-nascidos contra doenças infecciosas. O leite materno é um exemplo de imunidade passiva (OMS, 2023; DEMERS-MATHIEU et al., 2021).

A imunidade passiva natural é a passagem de imunoglobulinas por via transplacentária e através do leite materno, que depende do estado imunológico materno. A imunidade passiva artificial é a passagem de anticorpos prontos no soro. Da classe das imunoglobulinas G (IgG), elas são transferidas através da placenta para a corrente sanguínea fetal durante a gravidez, para fornecer imunidade sistêmica e cumprir seu papel protetor nos primeiros meses de vida. Após o nascimento, as nutrizes continuam a transferir anticorpos derivados do leite para o recém-nascido, proporcionando imunidade passiva nos primeiros meses de vida. O leite materno contém, entre inúmeros componentes imunologicamente protetores, citocinas, glicoproteínas, oligossacarídeos e anticorpos como IgM, IgG e IgA maternos (HUNAGUND et al., 2022).

Nesse aspecto, os lactentes amamentados apresentam menos episódios de infecções respiratórias em resposta ao efeito de componentes imunológicos naturalmente encontrados no leite materno, como anticorpos específicos, IgA, com ação significativa nas superfícies mucosas do trato respiratório e intestinal. Assim, a IgA do leite materno pode fornecer proteção contra doenças específicas nas vias aéreas e prevenir a ligação microbiana aos receptores do hospedeiro nas células epiteliais intestinais, aprisionando microrganismos patogênicos no muco e aumentando os movimentos ciliares, removendo patógenos invasores (MANTIS, ROL, CORTHÉS, 2011).

O leite humano é considerado o alimento mais adequado tanto para recém-nascidos a termo quanto para prematuros, pois possui composição nutricional balanceada e componentes bioativos, que favorecem a imunoproteção do recém-nascido. Esses componentes são variáveis e dependem do estado imunológico materno. Alguns recém-nascidos, especialmente aqueles em situação de vulnerabilidade, como os prematuros internados em unidades de terapia intensiva neonatal, apresentam os bancos de leite humano como importantes aliados da saúde (MANTIS et al., 2011; RODRÍGUEZ-CAMEJO et al., 2020).

As diretrizes internacionais recomendam que o leite humano doado aos bancos de leite humanos seja pasteurizado pelo método Holder (62,5 °C por 30 min). No entanto, o tratamento pode interferir em sua composição imunológica. Como o leite materno possui diferentes fases, na fase do colostro há maior concentração de compostos bioativos, e na fase do leite maduro concentra-se o maior número de doações aos bancos de leite. Há necessidade de conhecer as variações nos componentes imunológicos do leite ao longo do tempo (RODRÍGUEZ-CAMEJO, et al., 2020; HAN et al., 2022).

A vacinação durante a gravidez e lactação oferece proteção imunológica para a mãe, bem como benefícios imunológicos para a criança. Mulheres grávidas e puérperas podem ser mais vulneráveis a doenças infecciosas, como a Covid-19. Existem poucos estudos com leite humano pasteurizado realizados no Brasil. É importante conhecer fatores que podem interferir para a presença ou ausência desses elementos, como por exemplo o esquema vacinal aplicado contra Covid-19. Assim, as vacinas servem como um componente crítico dos cuidados preventivos de saúde para essas mulheres e uma importante intervenção de saúde pública. As mães vacinadas forneceram anticorpos contra o SARS-CoV-2 ao feto por meio da amamentação (HUNAGUND et al., 2022; BRASIL, 2012).



## 2 OBJETIVO

O objetivo desse estudo foi investigar a presença de anticorpos IgA e IgG específicos para SARS-CoV-2 no leite materno de mulheres submetidas ao Esquema de Vacinação Primário para Covid-19 antes ou durante a gravidez ou no período após o parto.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar à influência do processo de pasteurização para a presença de anticorpos específicos SARS-CoV-2 IgA e IgG no leite materno.
- Analisar o conteúdo de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 IgA e as quantidades de doses da vacina contra Covid-19 recebidas.
- Avaliar se existe correlação entre o conteúdo dos anticorpos específicos para SARS-CoV-2 IgA e os aspectos econômicos da mãe.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

Em 2019 ocorreu em Wuhan, na China, um surto de pneumonia grave de origem desconhecida e com alto poder de contaminação. Cientistas chineses revelaram a origem do vírus, da família dos coronavírus, denominado especificamente como SARS-CoV-2. Com a contaminação em diversos países, foi declarada em 2020 pela OMS, pandemia. O quadro infeccioso era caracterizado por infecção respiratória aguda, potencialmente grave, e de elevado poder de transmissão por via aérea e de contato; de apresentação clínica variável, de casos assintomáticos às formas mais graves, com comprometimento e falência respiratória. Os sintomas comumente observados foram: febre, tosse, coriza, dor de garganta, anosmia, ageusia, distúrbios gastrointestinais, astenia, hiporexia e dispneia (BRASIL, 2020).

A Covid-19 (*coronavirus disease 2019*, em português, doença por coronavírus 2019) é uma doença associada à infecção por SARS-CoV-2 (*severe acute respiratory syndrome coronavirus*, em português, *síndrome respiratória aguda grave pelo novo coronavírus*). A maioria das pessoas com Covid-19 desenvolve a forma leve da doença, sem complicações, porém algumas podem ser graves. Com maior probabilidade de desfechos negativos associados aos idosos, doentes crônicos e imunossuprimidos. Também foram incluídos nos grupos de risco para possíveis complicações da síndrome gripal, as gestantes em qualquer idade gestacional, puérperas até duas semanas após o parto (incluindo aborto ou perda fetal) e crianças menores de 5 anos (CARDOSO et al., 2021).

No Brasil durante a pandemia para o melhor planejamento das ações e controle em saúde, optou-se pela identificação dos grupos de risco, a exemplo de idosos, hipertensos, indivíduos com problemas respiratórios crônicos, como também as gestantes e puérperas (PAZ et al., 2020).

O Ministério da Saúde no Brasil divulga dados do Boletim Epidemiológico em maio de 2023 no qual foram registrados 137.945 casos e 1.458 óbitos registrados por Covid-19, em semanas anteriores em abril de 2023, foram 168.717 casos e 1.277 óbitos pelas secretarias estaduais de saúde demonstrando uma redução de 39,9% dos casos e um aumento de 12,4% dos óbitos. Foi possível observar, uma redução na taxa de incidência de 40,0%. Contudo, a taxa de mortalidade e letalidade

aumentaram 12,0% e 51,4% respectivamente em maio. Conforme dados do Sistema de Informação da Vigilância da Gripe (SIVEP - Gripe), em abril de 2023, foram notificados 3.551 casos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) por Covid-19 e 2.492 em maio de 2023, demonstrando uma tendência de redução de 30%. Nas semanas epidemiológicas em maio de 2023, observou-se que maior incidência e mortalidade entre idosos de 60 anos ou mais e crianças com 4 anos ou menos. A unidade da Federação (UF) com a maior incidência de casos de SRAG por covid-19 notificados em maio de 2023 foi o Distrito Federal, seguido da Paraíba, Sergipe e Rio Grande do Sul. Quanto à mortalidade de SRAG por Covid-19, Sergipe foi a UF com a maior taxa apresentada no mesmo período, seguido da Paraíba, do Rio Grande do Norte e do Acre. De forma geral, existe uma disposição de redução, tanto da incidência quanto da mortalidade de SRAG por Covid-19, a partir de março de 2023 (BRASIL, 2023).

Considera-se a pandemia de Covid-19, um dos acontecimentos mais chocantes na história recente da Saúde Pública, tendo sido chamado de “evento incapacitante em massa”. Consequências diretas de curto, médio e longo prazos foram trazidas sobre aqueles que adoeceram e a política e ao planejamento de saúde, além dos efeitos indiretos altamente disruptivos sobre a saúde das populações, como também repercutindo negativamente em ofertas de programas preventivos, como a vacinação (WERNECK, 2023).

A Secretaria da Atenção Primária à Saúde informou que as puérperas têm maior risco de gravidade se infectadas pelo vírus, tornando assim, primordial as ações de prevenção. As puérperas podem apresentar alterações físicas, hormonais e emocionais inerentes a esta fase, necessitando de mudanças de hábitos em relação ao cuidado com o bebê e o aleitamento (PAZ et al., 2020).

Os sintomas clínicos de Covid-19 em mulheres grávidas, assemelham-se das não grávidas. Na China, houve a avaliação de 118 gestantes com Covid-19 (64% infectadas no terceiro trimestre): febre e tosse em 75% e 73%, respectivamente; linfopenia em 44% das pacientes e forma leve da doença em 92%. A condição grave em 8% das mulheres, com ausência de óbitos. A infecção por Covid-19, nesse ciclo da vida, pode levar a evolução clínica e desfechos obstétricos desfavoráveis:

sofrimento fetal, aborto espontâneo, dificuldade respiratória, prematuridade e maior necessidade de parto cirúrgico (CARDOSO et al., 2021).

Há necessidade de maiores esclarecimentos dos efeitos da infecção por Covid-19 durante a gestação, puerpério e lactantes. Como também ao recém-nascido, pois não se sabe com exatidão sobre os impactos e repercussões, uma vez que é preciso confirmação através de estudos clínicos, amplos e bem fundamentados, quanto à possibilidade de transmissão vertical. O sistema imune de neonatos é imaturo, incapaz de combater o vírus de forma ativa, o que requer maior cuidado e investigação dos casos confirmados pela equipe de saúde (MACHADO et al., 2020; COSTA et al., 2021).

Os recém-nascidos não apresentam manifestações sintomáticas clássicas, provavelmente devido à imunoglobulina G materna, transferida via placenta ao neonato, como também através do leite materno, que transfere os anticorpos responsáveis por desencadear uma ação protetora para a infecção, reafirmando os benefícios e o fator protetivo da amamentação (BUONSENSO et al., 2020).

Os recém-nascidos recebem através do LH, além dos nutrientes necessários ao seu crescimento e desenvolvimento, os componentes bioativos adaptados às suas necessidades (RODRÍGUEZ-CAMEJO et al., 2020).

O LH possui fases distintas, a fase do colostro (até o sexto dia pós parto), nessa fase o leite possui maior concentração de compostos bioativos, no qual contém proteínas e anticorpos, cor amarelada; na fase de transição (entre o 6 e 15º dia pós-parto), o leite já estará mais denso e volumoso, rico em gorduras e carboidratos, e na fase do leite maduro (por volta do 25º pós-parto), o leite já possui uma aparência consistente e esbranquiçada, contém gordura, proteína, carboidratos e outros nutrientes, no qual se concentram os maiores números de doações aos bancos de leite (RODRÍGUEZ-CAMEJO et al., 2020).

### 3.1 ALEITAMENTO MATERNO

O melhor alimento ao RN a termo e prematuro é o leite materno. Os fatores protetores contra infecção estão presentes tanto no colostro quanto no leite maduro, e são responsáveis pela menor incidência de infecções quando comparado com os

bebês alimentados com fórmulas. O contato precoce ao seio ajuda a manter regular a temperatura e a taxa de glicose sanguínea. Além disso, o aleitamento materno está diretamente relacionado a formação fisiológica e emocional, onde o desmame precoce pode estar relacionado a transtornos psíquicos como a depressão materna. Como também, promove o maior vínculo afetivo entre mãe e filho, além de ser uma estratégia de alto impacto na redução de mortalidade em crianças menores de 5 anos (SILVA et al., 2020).

O Aleitamento Materno Exclusivo (AME) tem relação direta com a redução de óbitos por doenças infectocontagiosas, através da sua capacidade imunoprotetora. O AME é o aleitamento sob livre demanda, pode ser realizado direto da mama ou ordenhado, até o sexto mês de vida, no qual permite apenas a ingestão de medicação, vitaminas e mineral. O parto cesáreo eletivo, representa risco para o desmame precoce, como também a primiparidade e o uso de chupeta. Além desses, o despreparo de profissionais de saúde durante o acompanhamento no pré-natal e puerpério para a promoção do AME, atuando as vezes isoladamente e não em equipe multidisciplinar coordenada; em contrapartida os partos que são realizados em maternidades que cumprem os Dez Passos para o Sucesso do Aleitamento Materno, as mulheres com maior número de consultas no pré-natal, e o apoio paterno a amamentação têm uma relação positiva para o AME por mais tempo (SILVA et al., 2020).

No Brasil existe uma queda da prevalência de AME. Pois, apesar de muitas mulheres iniciarem o AME, elas desistem de forma precoce. No Brasil a estimativa de duração do AME em 2008 variou conforme a região: no Nordeste, a menor taxa; nas capitais do país, as taxas mais altas. Mantendo uma relação positiva do maior nível de conhecimento e uma maior disposição para o AME. O que favorece a criança, também traz benefícios para as mães: diminui o risco de câncer de mama, reduz os gastos com a alimentação, além de reduzir a relação com doenças crônicas não transmissíveis e a depressão pós-parto. O LM é o alimento ideal até dois anos de vida, única fonte de nutrientes e água para o crescimento e desenvolvimento do bebê até 6 meses de vida e complemento até dois anos (SILVA et al., 2020).

A OMS define AME quando a criança recebe exclusivamente o leite materno; o Aleitamento Materno Predominante (AMP), quando recebe o leite materno e outros

líquidos, como chás, sucos, porém estes podem apresentar riscos de contaminação; e o Aleitamento Materno Misto (AMM), quando recebe leite materno e também outros tipos de leite (fórmulas) e Aleitamento Materno Complementado (AMC) quando recebe, além do leite materno, qualquer alimento sólido ou semissólido (BRASIL, 2015).

### 3.2 FATORES PROTETORES DO LEITE HUMANO

Existe no LH fatores protetores que estimulam o sistema imunológico da criança uma maturação mais rápida que se estivesse usando fórmulas. Como exemplo, os bebês que são amamentados produzem elevados níveis de anticorpos em respostas as vacinas. O aleitamento materno promove a proteção contra invasores por meio do colostro e do leite maduro, pois completa a imunidade recebida na vida intrauterina, representada pela passagem transplacentária de anticorpos e pelos fatores de resistência presente no líquido amniótico. As crianças amamentadas ganham proteção extra de anticorpos e outras proteínas, além de células imunológicas do leite humano (SILVA et al., 2020).

O leite materno produzido até três dias após o parto, denominado colostro apresenta na sua composição fatores imunológicos com baixo teor de gorduras, capaz de promover a integridade celular, como também maiores taxas vitaminas E, A e Zinco. O teor de proteínas varia de 1,2 a 1,5 g/dL, capaz de auxiliar na promoção do crescimento, cerca de 40% de caseína e 60% de proteínas do soro, alfa lactalbumina, imunoglobulinas e enzimas. Tais fatores variam conforme as necessidades do recém-nascido e desempenham função protetora contra algumas doenças infecciosas. A mulher através do contato com os microrganismos dos ambientes, desenvolve anticorpos nos quais são transmitidos ao filho pelo leite materno. Assim, as imunoglobulinas protegerão o neonato durante o período de inabilidade imunológica (SILVA et al., 2020).

O LH tem na sua composição fatores que atuam como agentes de proteção no organismo do lactente como: Imunoglobulinas (IgA, IgG, IgM, IgD e IgE), linfócitos, macrófagos, lisozima, lactoferrina, componentes C3 e C4 do complemento, lactoperoxidase, ácidos carboxílicos livres (ácidos graxos), proteinases e oligossacarídeos. Os oligossacarídeos constituem o fator de crescimento da microbiota bífida e são conhecidos como fator bífidus. Vale ressaltar que a IgA uma

das imunoglobulinas mais abundantes no leite materno, conhecida como IgA secretora, no qual é encontrada em grande quantidade ao longo dos sistemas respiratório e gastrintestinal dos adultos (SILVA et al., 2020).

No primeiro mês na vida intrauterina inicia o desenvolvimento do sistema imunológico, no saco vitelino encontra-se as células-tronco com capacidade de dar origem a progenitores leucocitários. Ao nascer já estão desenvolvidos a maioria dos outros órgãos e sistemas, porém o sistema imunológico tem uma imaturidade funcional que se desenvolverá ao longo da infância e adolescência à medida que há exposição aos antígenos. É ao longo da vida que ocorre a evolução dos elementos celulares e humorais. Os mecanismos da imunidade inata se desenvolvem mais rápido que a imunidade adaptativa, e entre os constituintes da imunidade adaptativa (linfócitos T e B), o completo potencial de formar anticorpos é a última a ser adquirida, o que só ocorre no final da infância ou início da adolescência para anticorpos IgA séricos (ZHENG, 2022).

A suscetibilidade de recém-nascidos e lactentes a infecções é, em grande parte, compensado pela aquisição passiva de imunidade que acontecem através de pôr dois mecanismos: a transmissão transplacentária de anticorpos e a amamentação, capazes de promover proteção transitória sistêmica e mucosa, respectivamente, nessa fase. A vacinação durante a gestação promove a proteção do binômio, mãe e filho, previne infecções tanto na mãe quanto no feto e neste último, além de prevenir a infecção intrauterina, a vacinação materna induz uma resposta de anticorpos IgG que será transmitida ao feto via transplacentária, reduzindo potencialmente a gravidade de doenças neonatais. O transporte transplacentário de anticorpos IgG protege temporariamente o neonato contra patógenos aos quais a mãe foi exposta durante sua vida (ZHENG, 2022).

À medida que o lactente entra em contato com antígenos ambientais e vacinais, produz seus próprios anticorpos, como também acontece a redução dos níveis de anticorpos adquiridos da mãe. Sugere-se que a meia-vida da IgG materna transferida em lactentes é de 21 a 28 dias e que o transporte seja restrito aos anticorpos da classe IgG, feito fundamentalmente pela ligação das porções Fc (Fragmento cristalizado – responsável por determinar a função do anticorpo) dessas moléculas com os receptores FcRn (receptor Fc neonatal) presentes nas células sinciciotrofoblásticas da

placenta. Assim, a concentração de IgG materna adquirida pelo RN na gestação, sofre influência dos níveis de IgGs totais e patógeno-específicas, subclasses de IgG, idade gestacional ao nascer e a coexistência de infecções maternas que aumentam ou diminuem o transporte de anticorpos ou mesmo afetam a integridade da placenta. Entender os fatores que afetam a transferência placentária de anticorpos IgG é essencial para explorar esse mecanismo em benefício do RN (ZHENG, 2022).

Vacinar a gestante é uma estratégia que permite a transferência de altos níveis de anticorpos IgG específicos para o neonato, e oferecer proteção sistêmica por semanas após o nascimento, porém existem relatos que altos níveis de anticorpos IgG maternos pós-imunização pode diminuir a resposta de anticorpos infantis no momento da primeira dose da imunização ativa. A gravidez é um período de alto risco para infecção e aumentos na mortalidade materna e fetal em relação à população em geral o que pode ser observado durante a epidemia de H1N1 e posteriormente com Covid-19. Assim, a imunização materna é uma boa estratégia na prevenção de tais doenças em gestantes, fetos e recém-nascidos, já que as gestantes são uma população saudável e respondem bem às vacinas, devendo ser administradas durante o pré-natal (ZHENG, 2022).

### 3.3 REPERCUSSÕES EM RECÉM-NASCIDOS INFECTADOS PELO NOVO CORONAVÍRUS

As mulheres gestantes no segundo e terceiro trimestre, e/ou no puerpério tem maior probabilidade de complicações causadas pela infecção em relação a outros grupos, devido às alterações observadas durante a gestação. Precisa-se de esclarecimentos quanto aos impactos e repercussões da Covid-19 no RN, uma vez que é necessária confirmação através de estudos clínicos amplos e bem fundamentados quanto à possibilidade de transmissão vertical. O sistema imune de neonatos é imaturo e, portanto, incapaz de combater o vírus de forma ativa, requerendo maior cuidado e acompanhamento dos casos confirmados pela equipe de saúde (COSTA et al., 2021, MACHADO et al., 2020).

Para a possibilidade de transmissão do vírus durante a gestação deve-se levar em consideração a correlação da infecção por Covid-19 e a gravidez, com o parto prematuro e o peso ao nascer, além da possibilidade de transmissão vertical.



Verificou-se casos com níveis de reagentes IgM encontrados precocemente em neonatos, o que só é possível devido a produção de IgM no feto em resposta a transmissão vertical do SARS-CoV-2 (ARAÚJO; MELO, 2020).

Em estudo realizado na China, foi analisado o caso de recém-nascido clinicamente diagnosticado com infecção por Covid-19, com teste de RT-PCR (Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase, no inglês *reverse transcription polymerase chain reaction*), o exame padrão-ouro para o diagnóstico da Covid-19, mesmo após ter sido negativado por duas vezes para SARS-CoV-2. Nesse caso duas horas após o nascimento, o lactente apresentou-se dispneico e foi documentado um elevado nível de IgM de SARS-CoV-2 (YANG et al., 2020).

O Ministério da Saúde e órgãos como a OMS, Centers for Disease Control and Prevention e Sociedade Brasileira de Pediatria recomendaram a manutenção do aleitamento materno de mães infectadas pelo vírus SARS-CoV-2, mesmo sendo considerado a provável transmissão para o RN, existe um inegável valor nutricional e protetivo agregado ao leite materno quanto à passagem de anticorpos maternos para o RN. Porém, orienta-se que durante o aleitamento, a mulher siga as recomendações e medidas protetivas com a utilização de máscara facial durante a mamada e lavagem das mãos antes e após o processo (BRASIL, 2020; SBP, 2020; CDC, 2020).

Numa unidade hospitalar buscou-se investigar, descrever o tratamento e acompanhamento de RN infectados, porém não houve indícios de inapetência, além de ausência de sintomatologia típica de Covid-19, como tosse, diarreia ou estado febril. Na unidade hospitalar, observou-se apenas um RN que apresentou leves desvios na saturação de oxigênio e congestão nasal leve. E para o tratamento a equipe de saúde usou antibióticos na prevenção de sepse (BOHMOVA, FLEMING; GRATTAN, 2020).

Um dos principais achados entre os RN com Covid-19 transmitidos da mãe foi a sepse neonatal tardia. Ainda não foi documentada a transmissão vertical da doença, mas estudos apontam sua possibilidade. Assim, destaca-se a importância dos cuidados tanto com a transmissão horizontal de mãe para filho, quanto com a vertical, uma vez que podem levar ao parto prematuro, a ruptura prematura das membranas e ao sofrimento fetal (YEE et al., 2020).

Manifestações clínicas tardias e graves em crianças infectadas pelo SARS CoV-2, estão sendo monitoradas por pesquisadores, através de casos que evoluíram

para uma resposta inflamatória sistêmica grave. A Síndrome Inflamatória Multissistêmica da Criança (MIS-C), pode ser de extrema gravidade clínica com elevação de marcadores inflamatórios, o que causam disfunções múltiplas nos órgãos, comprometimentos dos sistemas gastrointestinal, cardiovascular e respiratório. Para o tratamento, o uso de medicações anti-inflamatórias, corticosteróides e a imunoglobulina, deve ser realizado o mais precocemente possível (FIOCRUZ, 2020).

### 3.4 PASTEURIZAÇÃO

Os microrganismos que compõem a microbiota do leite humano ordenhado podem ser classificados quanto à origem ou à patogenicidade. Os considerados contaminantes primários são aqueles que passam diretamente da corrente sanguínea para o leite, como no caso o HIV (Vírus da Imunodeficiência Humana); e secundários são os que ficam nas regiões mais externas dos canais mamilares e o meio exterior. Independentemente de sua origem, os integrantes da microbiota primária e secundária podem ainda ser classificados como saprófitos ou patogênicos (ALMEIDA, 1999, BRASIL, 2001, BRASIL, 2006).

Para assegurar a qualidade sanitária do leite humano ordenhado destinado aos recém-nascidos internados em Unidade de Terapias intensiva (UTI), é necessário a realização de procedimentos adequados, pois esse leite não pode apresentar microrganismos em quantidade ou qualidade capazes de representar agravos à saúde (SILVA, 2004).

Um método eficaz indicado é a pasteurização, técnica conhecida e praticada no campo da tecnologia de alimentos. Esse é um tratamento térmico aplicado ao leite humano, e tem como referência a inativação térmica dos microrganismos mais termorresistente, a *Coxiella burnetti*. Uma vez observado o binômio temperatura de inativação e tempo de exposição, no qual apresentam a capacidade de promover a inativação desses microrganismos, com isso é assegurado que os demais patógenos também estarão termicamente inativados (BRASIL, 2001).

O processo de pasteurização foi realizado nesse estudo segundo o protocolo praticado pela Rede Brasileira de Bancos de Leite Humano (rBLH-BR). O leite humano ordenhado cru coletado e aprovado pelo controle de qualidade foi pasteurizado a

62,5 °C por 30 min após o tempo de pré-aquecimento. A pasteurização não visa à esterilização do leite, mas sim a uma letalidade que garanta a inativação de 100% dos microrganismos patogênicos passíveis de estar presentes, quer por contaminação primária ou secundária, além de 99,99% da microbiota saprófito ou normal (BRASIL, 2001).

## 4 METODOLOGIA

Estudo observacional realizado com 103 amostras de leite materno de mulheres submetidas ao EVP contra a Covid-19 antes ou durante a gravidez ou após o parto e analisadas por meio de ensaios imunoenzimáticos (ELISA) para a presença de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 IgG e IgA. Este estudo buscou compreender as relações de causa e efeito, quanto ao conteúdo de IgA anti-SARS-CoV-2, variável dependente. As amostras de leite materno foram organizadas aleatoriamente em grupos, um grupo controle (GC), e um grupo observacional (GO). Foi realizada a investigação quanto aos efeitos das variáveis independentes: processo de pasteurização; fases do leite materno; esquemas vacinais (Esquema Vacinal Primário, EVP, aplicado antes ou durante a gravidez ou puerpério e Esquema Vacinal Completo, EVC, com diferentes números de doses da vacina contra Covid-19 aplicados); e as condições econômicas da mãe.

Os doadores voluntários vieram do BLH da Maternidade Dona Evangelina Rosa, em Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil. A coleta de dados ocorreu entre maio e outubro de 2022, após o aceite e assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram coletadas amostras de leite humano, armazenadas no banco de leite. No GO com 83/103 e no GC, foram utilizadas 20/103 amostras de leite materno as quais foram analisadas antes da pasteurização, ou seja, Leite Humano Cru (LHC) e também após a pasteurização (LHP).

Este estudo foi realizado no Banco de Leite Humano da Maternidade Dona Evangelina Rosa (BLH-MDER), hospital terciário de assistência a mães e bebês, localizada em Teresina, Piauí, Nordeste do Brasil. As amostras de leite humano ordenhado foram provenientes de doadoras voluntárias do banco de leite da referida maternidade.

No Brasil, o MS deu início a campanha nacional de vacinação contra Covid-19, em janeiro de 2021, com o envio das primeiras doses pelo MS, aos estados e ao Distrito Federal. E quase três anos após essa data de início, cerca de 80,2% dos brasileiros com mais de 6 meses de idade completaram o EVP ou básico, no qual foram aplicados duas doses ou dose única, dependendo do tipo de vacina administrado. O MS considera como esquemas vacinais para Covid-19, o EVP e o

EVC (Esquema Vacinal Completo) no qual estão inclusas também as doses de reforço (BRASIL, 2023).

Assim, para esse estudo foram consideradas vacinadas as doadoras que realizaram no mínimo o EVP ou básico da Covid-19.

#### 4.1 COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

O estudo foi conduzido em conformidade os preceitos fundamentais da Resolução do Conselho Nacional de Saúde – CNS 466/12, que trata das Diretrizes e Normas de Pesquisas Envolvendo Seres Humanos. O estudo foi submetido a Plataforma Brasil e aprovado através do parecer 55743622.4.0000.5494 pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Brasil (ANEXO II) e comissão de ética em Pesquisa da Maternidade Dona Evangelina Rosa. Os dados foram coletados após aprovação da Plataforma Brasil.

#### 4.2 COLETA DAS AMOSTRAS PARA DETECÇÃO DE ANTICORPOS

A coleta ocorreu entre maio e outubro de 2022, após intensa sensibilização do público-alvo no município de Teresina, com apoio dos profissionais de Saúde da Estratégia de Saúde da Família, e divulgação na mídia para ampliação de doações. Antes da coleta da amostra realizava-se a orientação e esclarecimento às participantes quanto os objetivos, importância, riscos e benefícios da pesquisa e quanto ao sigilo e possibilidade de sair do estudo a qualquer momento, e após o aceite, a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

As participantes da pesquisa preencheram uma ficha de cadastro das doadoras do banco de leite (Anexo I), cadastro preenchido por todas as doadoras voluntárias de LH da referida maternidade. Em seguida foram realizadas as coletas do leite materno por meio de ordenha manual. Após a assinatura do termo de consentimento pelas doadoras quanto à aceitação em participar da pesquisa, foram realizadas as identificações dos tubos de ensaios com os códigos, escolhidos de forma aleatória, para manter em sigilo a identidade da doadora. Realizou-se a separação das amostras conforme o grupo, controle ou experimental.

A coleta do LH foi à sua totalidade realizada domiciliar por meio de ordenha manual em frascos estéreis homologados, mantidos permanentemente em cadeia de frio, no domicílio, sob congelamento, devidamente identificado de forma a garantir sua rastreabilidade e sigilo da doação.

As amostras foram coletadas por meio de ordenha manual. As amostras do grupo experimental foram submetidas ao processo de pasteurização. Após as coletas de todas as amostras foram realizados ensaios imunoenzimáticos no laboratório de Virologia Clínica Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (LVCM/USP/SP). Os imunoenaios foram aplicados, para a detecção de anticorpos específicos da SARS-CoV-2 (IgG e IgA).

O processo de pasteurização foi realizado segundo o protocolo praticado pela rBLH, conforme descrito a seguir:

#### 4.3 TÉCNICA DE PASTEURIZAÇÃO

1. Regula-se o banho-maria à temperatura de operação (suficiente para atingir 62,5 °C no ponto frio) e espera-se a estabilização.
2. Considera-se o equipamento estável e pronto para entrar em operação quando a luz-piloto acende e apaga três vezes consecutivas, e a temperatura de operação se mantém estável.
3. Carrega-se o banho-maria com os frascos contendo o leite a ser pasteurizado.
4. Utiliza-se sempre embalagens padronizadas.
5. O nível de leite no interior da embalagem fica abaixo do nível da água do banho-maria.
6. Em função do desprendimento de ar dissolvido no leite humano durante o processo de aquecimento, o rosqueamento das tampas fica com folga de  $\frac{1}{4}$  de volta (embalagem semifechada).
7. Inicia-se a marcação do tempo de letalidade térmica (30 min) a partir do momento em que a temperatura do LH atinge a marca de 62,5 °C (tempo de pré-aquecimento).

8. O tempo de processamento depende do tipo, do volume e do número de frascos utilizados durante a pasteurização.

9. Transcorridos os 30 min relativos à letalidade térmica, promove-se o resfriamento dos frascos até que o leite humano atinge uma temperatura igual ou inferior a 5 °C.

10. O resfriamento dos frascos pôde ser obtido pela imersão dos recipientes em um banho contendo água e gelo (SILVA, 2004).

#### **4.3.1 Monitoramento do processo**

- A pasteurização do LH foi monitorada a cada cinco minutos, com registro da temperatura em planilha específica no momento da averiguação.

- Não se permitiu oscilação da temperatura superior a 0,1 °C (SILVA, 2004).

#### **4.3.2 Aferição do equipamento**

O equipamento foi aferido após a realização de 30 ciclos de pasteurização, repetindo-se as curvas de penetração de calor.

### **4.4 PARTICIPANTES DA PESQUISA**

As participantes enquanto doadoras cadastradas seguiram todos os protocolos recomendados pelo Banco de Leite Humano (BLH) quais sejam as normativas contidas na Resolução - RDC 171 (2006), ANVISA, e Normas Técnicas da rBLH, desde o cadastro inicial até a última etapa da coleta de LH.

Os riscos presentes foram os riscos de graus mínimos. Pois pode haver algum desconforto ou constrangimento ao responder alguma questão. No entanto, todos os dados coletados foram mantidos em sigilo, sendo assegurado total anonimato, como nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, ser

identificado pelos pesquisadores (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.i e IV.3.e).

#### 4.5 AMOSTRAGEM

O estudo foi realizado com 103 amostras de LH, ordenhado cru, provenientes de lactantes submetidas a EVP antes ou durante a gravidez e após o parto contra Covid-19, doadoras voluntárias do banco de leite da MDER, em Teresina, capital do Piauí, Nordeste do Brasil.

O GC, composto de 20 amostras de leite humano cru (LHC), sendo analisadas através de ensaios imunoenzimáticos antes do processo de pasteurização, como também as mesmas amostras foram analisadas após o processo de pasteurização (LHP) e o GO, composto de 83 amostras de LH submetidas ao processo de pasteurização.

Para as amostras do grupo controle foram separados 1 mL do LHC em tubos de ensaios estéreis, para análise imunoenzimático, como também 1 mL de LHC para serem submetidas ao processo de pasteurização (LHP), ou seja, 2 mL de LH provenientes de uma mesma doadora. As amostras eram identificadas e organizadas em bandejas conforme o grupo selecionado e armazenado em freezer entre -20 °C a -22 °C.

O GC teve número de participantes limitado por orientação do próprio banco de leite, por necessitar de um maior volume de leite.

O processo de pasteurização realizado foi o recomendado pela rBLH, em que as amostras de LH eram submetidas em embalagens e volumes padronizadas em pasteurizador calibrado para no máximo 65 °C e após, submetidas à pré-aquecimento e ao atingir a temperatura de 62,5 °C e transcorrido 30 min estáveis, eram resfriadas rapidamente em até 13 min a uma temperatura igual ou inferior a 5 °C. Após, foram extraídas alíquotas de 1 mL do LHP em tubos de ensaios (ependorfs), identificados, e organizados em bandejas, segundo o grupo participante, e armazenados em freezer entre -20 °C a -22 °C.

Após a coleta, as amostras, foram encaminhadas ao LVCM/USP/SP. Para o transporte, as amostras foram organizadas e armazenadas em caixa de transporte, em isopor, e gelo seco, devidamente lacrado, identificado e enviado pelos correios, pela logística da Rede Vírus, com toda agilidade e segurança necessária à operação.



## 4.6 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

As amostras foram submetidas aos ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA, *enzyme linked immunosorbent assay*), para detecção de anticorpos específicos para SARS-CoV-2, por este ser um método sensível e rápido para detecção de imunoglobulinas como: IgA e IgG (MAGNO *et al*, 2020).

Para a análise das amostras, estas passaram por três etapas: 1ª Etapa: Preparo das amostras: As amostras primariamente coletadas e acondicionadas, foram descongeladas, em geladeira e homogeneizadas com auxílio de agitador de microtubos, para que fossem realizadas alíquotas de 350 µL a partir da amostra principal, construindo assim um banco trabalho da amostragem. 2ª Etapa: Realização dos ensaios na plataforma de ELISA por meio do uso de kit comercial e execução do método *in house*. 3ª Etapa: Obtenção e análise dos dados.

### 4.6.1 Ensaio de ELISA para detecção de IgA

O ensaio de escolha para detecção e análise qualitativa das IgA, foi o método de ELISA com antígeno recombinante da proteína Spike da cepa ancestral Wuhan do SARS-CoV-2. As placas revestidas pelo antígeno foram adquiridas pela adaptação do KIT comercial EUROIMMUN anti-SARS-CoV-2 IgA de soro e plasma (Figura 1), para detecção de anticorpos em amostras de LH. A escolha pela adequação para uso de placas revestidas de um kit comercial, foi realizada devido à disponibilidade dele no LVCM/USP/SP, que efetuou as doações, possibilitando a execução dos ensaios. Também pelo mesmo possuir controles previamente estabelecidos, que contribuíram como parâmetros de funcionamento do antígeno associado à placa.

A partir disso, para realização dos ensaios de ELISA, amostras de LH previamente conhecidas quanto ao histórico de exposição das pacientes ao vírus e a esquemas de imunização, com produção de IgA sérico, foram testadas com a finalidade de verificar o potencial de detecção da plataforma com o espécime, bem como para estabelecer qual melhor diluição do leite para detecção de IgA.

O painel submetido ao kit foi previamente diluído em 1/50, 1/100 e 1/1000, sendo todos os estágios que sucederam seguidos sem alterações de acordo com o manual, o qual sucintamente compreendeu a adição de 100 µL/poço das amostras, com incubação a 37 °C/ 60 min; seguido de três ciclos de lavagem com solução

tampão de lavagem do kit, bem como a adição posterior de 100 µL/poço de conjugado enzimático (Anti-IgA humano marcado com peroxidase), seguido de nova incubação 37 °C/ 30 min; ao término novamente a placa passou por 03 ciclos de lavagem, sendo acrescentados 100 µL/poço de solução cromógena que reagiu por 30 min sob abrigo de luz, etapa a qual há interação da solução com a molécula de peroxidase possibilitando a detecção das IgAs. Por fim, para encerrar a reação é acrescentada à mistura a solução de parada do kit. A medição fotométrica foi realizada no comprimento de onda de 450 nm através do equipamento Loccus - Leitora de microplacas, placas de Elisa, LMR-96.

Após a determinação da melhor diluição para detecção de IgA [1/100], as amostras do estudo foram submetidas em duplicatas ao teste, bem como a cada placa foram acrescentados como controles: o positivo para anti-SARS-CoV-2 IgA, o negativo para anti-SARS-CoV-2 IgA e calibrador do kit, sendo este último em duplicata. Além dessas foram testadas amostras de leite de mulheres coletadas antes da pandemia, de controle interno, para o estabelecimento do cut-off de cada placa, por meio do cálculo de 3 vezes o desvio-padrão, a triplicata das amostras negativas para anti-SARS-CoV-2 IgA.

Figura 1 - Imagem do kit comercial EUROIMMUN anti-SARS-CoV-2 IgA



Observa-se na Figura 2 a bancada preparada com os 103 microtubos cada microtubo com 1 mL de leite humano separado e identificado, para serem submetidos ao procedimento de alíquotagem e distribuídas em duplicatas nas placas (Figura 3).

Figura 2 - Imagem da bancada preparada com 103 tubos de ensaio

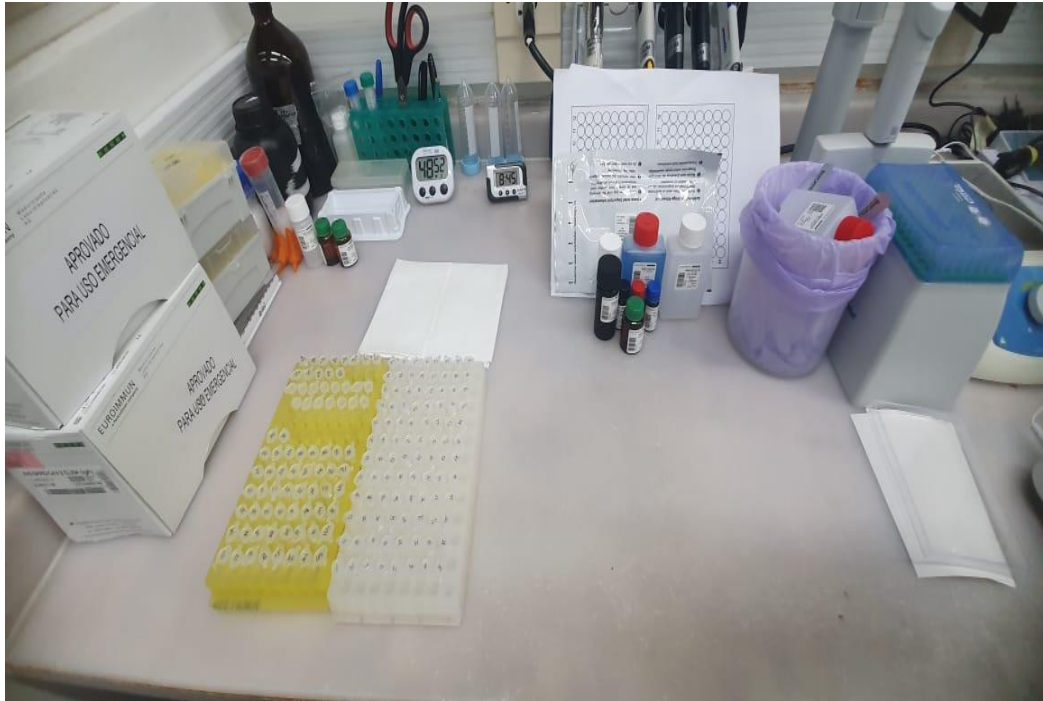


Figura 3 - Imagem das placas organizadas.



Observa-se na Figura 3 as placas organizadas para a adição de 100 µL/poço das amostras, com incubação a 37 °C/60 min; seguido de 3 ciclos de lavagem com Solução Tampão de Lavagem do kit, bem como a adição posterior de 100 µL/poço de conjugado enzimático (Anti-IgA humano marcado com peroxidase), para a detecção das IgAs.

#### **4.6.2 Ensaio de ELISA para detecção de IgG**

O ensaio de ELISA para detecção das IgG no leite foi obtido a partir da adaptação de um ELISA *in house* previamente padronizado conforme Wendel et al (2020) para detecção de anti-SARS-CoV-2 em amostras de soro e plasma. Esta plataforma se baseou no uso do antígeno de nucleoproteína do vírus (nCoV-PS-Ag7, Fapon Biotech Inc., Dongguan, China), a partir de placas de 96 poços de alta ligação, previamente revestidas com 200 ng/poço do antígeno em solução tampão de carbonato e bicarbonato de sódio incubadas por 1 h/37 °C; e bloqueadas posteriormente por 3 h de exposição a tampão fosfato salino suplementado com Tween 20, manitol e lisina. Após o preparo das placas, algumas amostras do mesmo painel de amostras de LH com características pré-determinadas, utilizadas para padronizar a concentração de uso das amostras, foi submetido ao ensaio nas concentrações 1/50, 1/100 e 1/1000.

Para a realização da técnica os passos foram seguidos de acordo com o protocolo de origem, que sucintamente compreenderam a adição de 100 µL/poço das amostras diluídas [1/100] em tampão diluente contendo solução de Tris acrescida de EDTA (Ácido Etilendiaminotetraacético) caseína, que foram incubadas por 1 h/37 °C. Posteriormente a incubação, passaram por três ciclos de lavagem com Tampão fosfato-salino 0,05% Tween20 e novamente incubadas com 100 µL/poço de anticorpos secundários anti-IgG humana conjugada com peroxidase (Sigma-Aldrich Co., Deisenhofen, Alemanha) 1 h/37 °C. Após mais três ciclos de lavagem final, os poços foram corados com 100 µL/poço de TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina, Sigma-Aldrich Co., Deisenhofen, Alemanha) que reagiu por 10 min sob abrigo de luz, e a reação foi interrompida com o acréscimo de 100 µL/poço de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Ácido sulfúrico) 0,2 N (Normal). A leitura fotométrica foi realizada no comprimento de 450 nm em leitor

de placas. Para a conferência dos resultados, foram utilizadas amostras controles determinadas no ensaio inicial com painel, mas a ausência de leite materno controle positivo confirmado por técnica complementar padrão-ouro, implicou na confiabilidade do ensaio.

#### 4.7 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Não houve amostras excluídas.

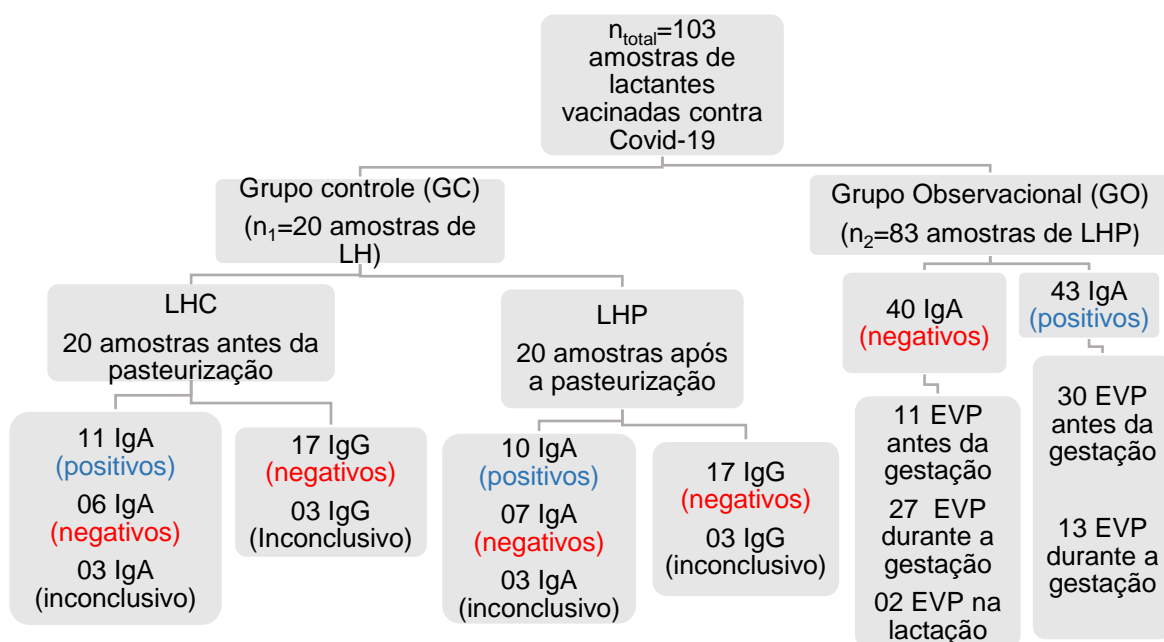
#### 4.8 ANÁLISE DOS DADOS

Foram considerados semiquantitativamente níveis de anticorpos anti-SARS-CoV-2 IgA e IgG detectados em cada amostra usando o kit Euroimmun anti-SARS-CoV-2 e o ELISA *in house*. Para o tratamento dos dados estatístico foi utilizado o Software Graphpad Prisma v.7. ANOVA unilateral seguida de testes de comparação múltipla de Tukey, para avaliar a significância estatística entre grupos (LHC e LHP, fases do leite, número de doses de vacina e níveis de IgA).

## 5 RESULTADOS

Este estudo foi realizado com 103 amostras de lactantes, que fizeram o EVP antes, durante a gravidez, ou no puerpério. As amostras de LH coletadas foram armazenadas no banco de leite da Maternidade Dona Evangelina Rosa, Teresina, Piauí. No GO, no qual todas as amostras foram submetidas ao processo de pasteurização 83/103 amostras, obteve-se 52% (43/83) de positivos para IgA, sendo que 30 pertenciam a lactantes que fizeram o EVP antes da gravidez, enquanto 13 fizeram EVP durante a gestação ou no puerpério. No GC, no qual as amostras foram analisadas antes (LHC) e após serem submetidas ao processo de pasteurização, foram utilizadas 20/103 amostras, No LHC obteve-se 11/20 (55%) positivas para IgA e 3/20 (15%) ficaram na faixa inconclusiva para IgA e IgG, neste grupo. No grupo controle, observamos que não houve diferença estatística entre os resultados do LHP e LHC. Os resultados mostraram a presença de anti-SARS-CoV-2 IgA no LHP, com maiores números de resultados positivos concentrados entre as doadoras que fizeram o EVP contra Covid-19 antes da gravidez o que pode ser observado no fluxograma (Figura 4).

Figura 4 - Fluxograma do estudo



Fonte: Autoria própria

A Tabela 1 mostra as características da população participante do estudo segundo as condições econômicas, maternas e de vacinação contra Covid-19. Entre as lactantes incluídas no estudo verificou-se a administração de cinco tipos diferentes de vacinas: a Coronavac, a Pfizer-bioNTech, a Oxford - Fiocruz, a AstraZeneca e Janssen.

Tabela 1 - Características das lactantes participantes no estudo.

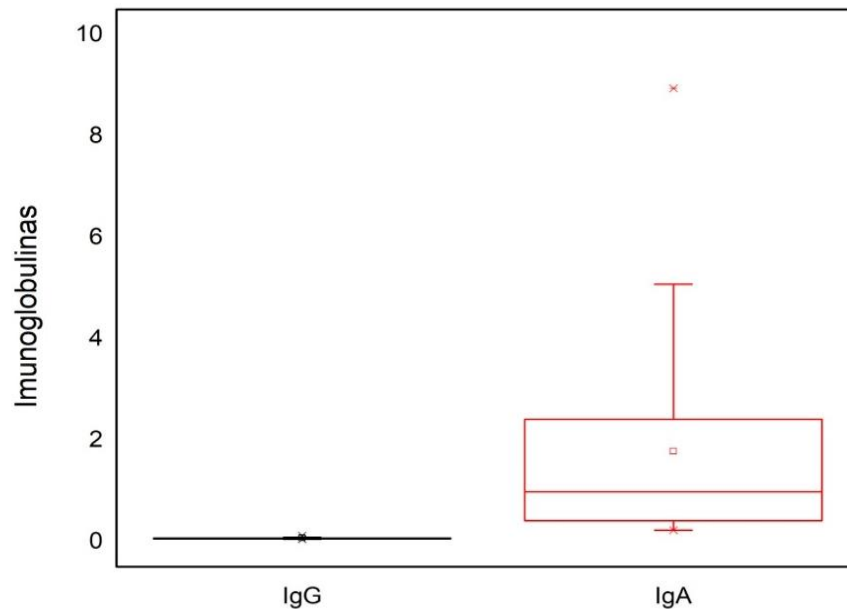
<b>Características das lactantes (n=103)</b>				
<b>Anos (Idade)</b>	2% (18-19 anos)	32% (20-29 anos)	54% (30-39 anos)	12% (40-50 anos)
<b>Renda média da família</b>	34% (1 salário-mínimo)	24% (1 a 3 salários-mínimos)	42% (acima de 03 salários-mínimos)	
<b>Escolaridade</b>	9% (Ensino fundamental completo e/ou incompleto)	36% (Ensino médio completo e/ou incompleto)	55% (Ensino Superior e/ ou Pós-graduação)	
<b>Idade Gestacional do parto (semanas)</b>	15% (27-36 semanas)	85% (37-41 semanas)	0% (42 semanas a mais)	
<b>Números de filhos</b>	56% (primípara)	31% (até dois filhos)	13% (múltipara)	
<b>Ingestão de bebida alcoólica</b>	1% (sim)	99% (não)		
<b>Quantidade de tipos de vacinas</b>	29% (1 tipo)	44% (2 tipos)	27% (3 tipos)	
<b>Quantidades de doses aplicadas por doadora</b>	2% (0-1 dose)	21% (2 doses)	50% (3 doses)	27% (4 doses)

Fonte: Autoria própria

Características das lactantes participantes do estudo podem ser observadas na Tabela 1. A maioria das participantes, tinha idade entre 30 - 40 anos, 42% apresentavam uma renda acima de 3 salários-mínimos. Quanto a escolaridade, 55% tinham nível superior. Quanto a idade gestacional, cerca de 85% tiveram partos a termo (37-41 semanas). E cerca de 56% das participantes eram primíparas. Das lactantes, a maioria, 52%, usaram apenas 1 tipo de vacina, e 50% aplicaram as 3 doses de vacinas, ou seja, fizeram 1 dose de reforço. Verificou-se que houve grandes variações das quantidades de tipos de vacinas aplicadas por lactante, o que dificultou as associações com os níveis de produção de anticorpos.

A representação quanto a presença de IgG e IgA, em amostras de LH, provenientes de doadoras vacinadas para Covid-19 está apresentado na Figura 5.

Figura 5 - Nível de imunoglobulinas IgG e IgA



Fonte: Autoria própria

O diagrama de caixa permite visualizar a distribuição e valores discrepantes quanto à presença das imunoglobulinas. Com a análise do gráfico observa-se os valores para IgG concentrados numa mesma posição. Porém, houve dispersão dos resultados encontrados para anti-SARS-CoV-2 IgA, provocado pela grande variação dos dados encontrados, como pode ser observado pelo intervalo interquartil, diferença entre o terceiro quartil e o primeiro quartil (tamanho da caixa), ou ainda pela amplitude, que é o valor máximo – valor mínimo. As IgA têm uma distribuição assimétrica positiva, percebida pela posição da linha da mediana que está próxima do primeiro quartil. Vale ressaltar que a mediana é a tendência central, uma vez que a média aritmética é influenciada pelos valores extremos. É possível observar valores discrepantes para IgA, representados pelos valores fora da caixa.

Os ensaios de ELISA realizados com a proteína Spike KIT IgA EUROIMMUN para detecção de anti-SARS-CoV-2 IgA obtiveram como valores de referência valores padronizados pelo fabricante, utilizado para resultados positivos, valores maiores ou



iguais a 1,1; para resultados negativos valores menores que 0,8; borderline, valores maior ou igual a 0,8 e menor ou igual a 1,1.

Pode-se observar na Tabela 2 os resultados no grupo controle para os valores de anti-SARS-CoV-IgA na amostra com leite humano cru e após o processo de pasteurização proveniente da mesma doadora, como também verificar fase do leite materno correspondente para a amostra em análise (coloostro, transição, maduro).

Tabela 2 - Fase do LH e valores de anti-SARS-CoV IgA no LHC e LHP (Grupo Controle)

Amostra	Fase do leite	Leite Humano Cru (LHC)	Leite Humano Pasteurizado (LHP)
1	Maduro	5,04	3,7
2	Colostro	2,15	1,53
3	Transição	0,65	0,52
4	Maduro	0,28	0,30
5	Maduro	0,98	0,94
6	Maduro	6,1	5,02
7	Maduro	3,51	2,51
8	Colostro	1,26	1,00
9	Maduro	1,58	1,17
10	Maduro	0,34	0,33
11	Maduro	0,47	0,43
12	Maduro	0,93	1,56
13	Maduro	1,74	1,50
14	Maduro	2,96	2,66
15	Colostro	1,16	0,97
16	Transição	0,31	0,26
17	Maduro	1,24	0,98
18	Maduro	0,88	0,62
19	Maduro	0,55	0,41
20	Maduro	1,68	1,23

Fonte: Autoria própria

Legenda:

Azul: resultado reagente

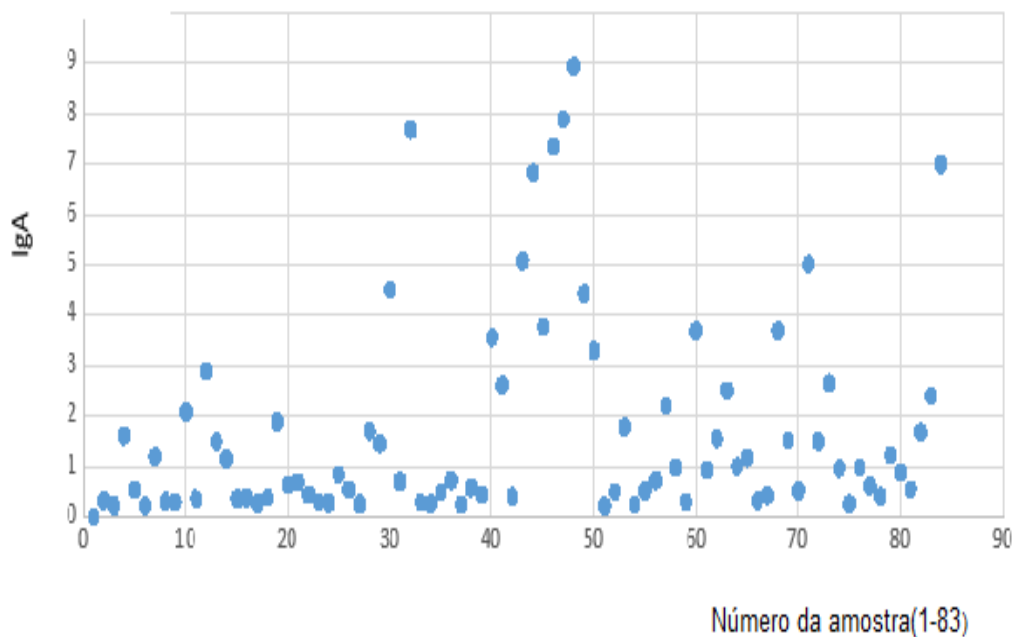
Vermelho: resultado não reagente

Preto: inconclusivo (Borderline)

Pode-se observar na Tabela 2 que a média para IgA positivo no Leite Humano Cru (antes do processo de pasteurização) foi  $3,88 \pm 2,50$  e para o Leite Humano Pasteurizado (depois do processo de pasteurização) foi  $2,41 \pm 1,27$ . Assim, apesar de observados perdas de fatores protetores em algumas amostras, não houve diferença significativa entre LHC e LHP, como pode-se constatar com  $p = 0,840$ , ou seja,  $p \geq 0,05\%$ , desse modo, o processo de pasteurização não é significativo, para presença dos anti-SARS-CoV-2 entre as amostras de leite humano dos diferentes grupos.

Observa-se nas Figuras 6 e 7 os resultados encontrados no grupo observacional. Na Figura 6 representou-se por amostra os valores (semiquantitativamente) dos anticorpos SARS-CoV-2 IgA no leite humano após a pasteurização. Na figura 7 apresentou-se os resultados encontrados dos valores de Anti-SARS-CoV IgA, conforme a fase do leite materno (colostro, transição, maduro).

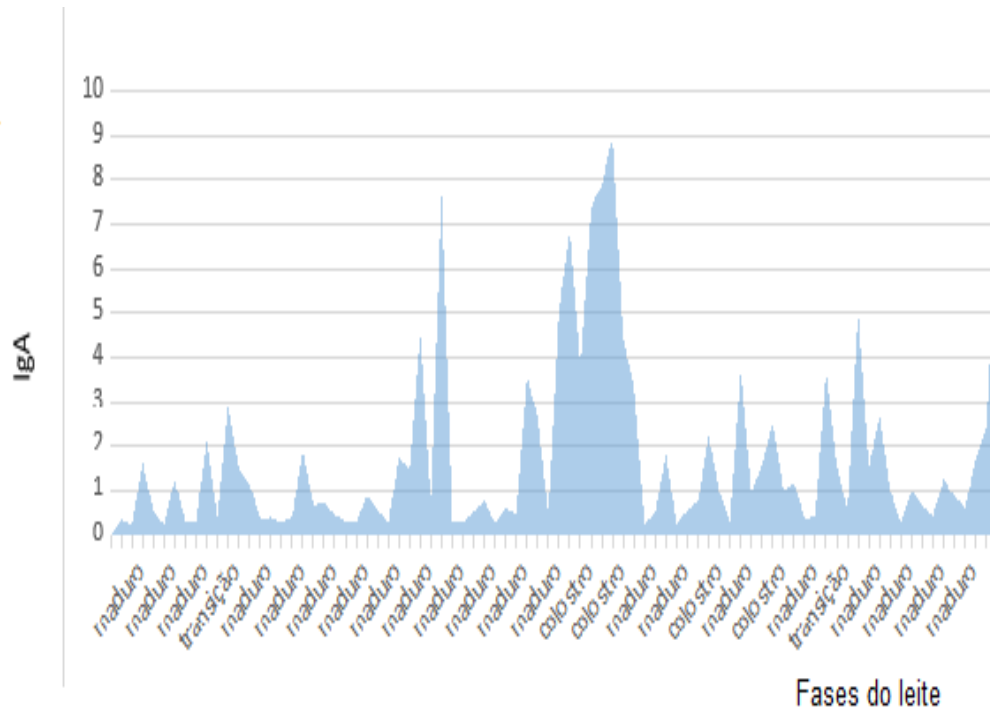
Figura 6 – Valores de Anti SARS-CoV IgA no leite humano após a pasteurização (Grupo Observacional)



Fonte: Autoria própria

Na Figura 7, foram observados diferentes níveis de anti-SARS-CoV- IgA e foram representados no gráfico de acordo com as fases do leite humano pertencente por amostra.

Figura 7 - Níveis de IgA e as fases do leite humano



Fonte: autoria própria

Observa-se na tabela 3 os valores de  $p$  alcançados através do teste de tukey, no qual obteve-se  $p \geq 0,05$ , ou seja, as fases de leite materno não têm representação significativa para a presença de anti-SARS-CoV-2 IgA.

Tabela 3 - Valores de  $p$  (Comparação entre as fases de leite Materno)

	<b>Colostro</b>	<b>Transição</b>	<b>Maduro</b>
<b>Colostro</b>		0,132	0,511
<b>Transição</b>	0,132		0,263
<b>Maduro</b>	0,511	0,263	

Fonte: autoria própria

Não houve diferenças significativas para produção de anti-SARS-CoV-2 IgA entre as diferentes fases do leite (colostro, transição, maduro) com  $p \geq 0,05$ .

Entre as doadoras existiam distintos esquemas de vacinação contra Covid-19, variavam quanto: tipos de vacina, números de doses e/ou períodos de aplicações (antes e/ou durante a gestação, e/ou puerpério), que contribuíram para a detecção diferenciada de resultados positivos e níveis de produção de Anti-SARS-CoV-2 IgA.

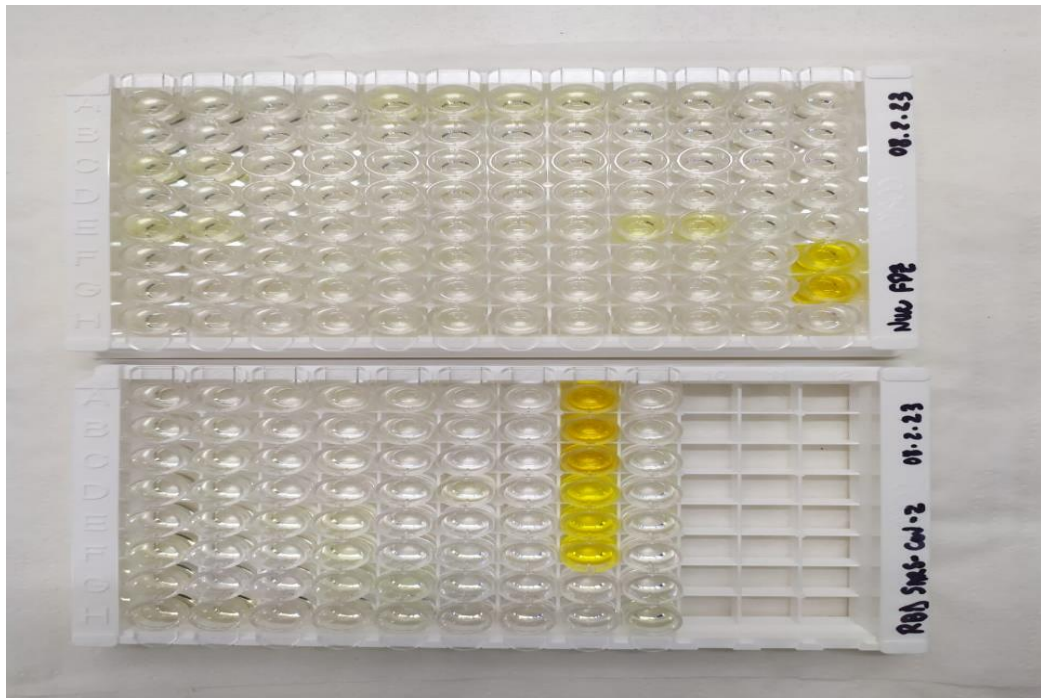
Outra forma de observar a presença dos Anti-SARS-CoV-2 IgA acontece através da imagem dos poços das placas analisadas com as alíquotas das amostras de leite humano, que após os ensaios as alíquotas aparecem com tonalidades amareladas, de variadas intensidade, quanto mais escuro o tom de amarelo, maior o valor semiquantitativo encontrado referente ao nível das Imunoglobulinas (Figura 8), o que também observado na Figura 9 trazendo evidências da presença da anti-SARS-CoV-2 IgG entre as amostras no grupo controle.

Figura 8 - Imagem das placas com sinalização de anti-SARS-CoV IgAs



Observa-se na figura 8 as placas após a adição de 100 uL/poço das amostras, com incubação a 37 °C/60 min; seguido de 3 ciclos de lavagem com Solução Tampão de Lavagem do kit, bem como a adição posterior de 100 uL/poço de conjugado enzimático (Anti-IgA humano marcado com peroxidase), e sinaliza a detecção de anti-SARS-CoV IgAs no leite humano. A medição fotométrica foi realizada no comprimento de onda de 450nm.

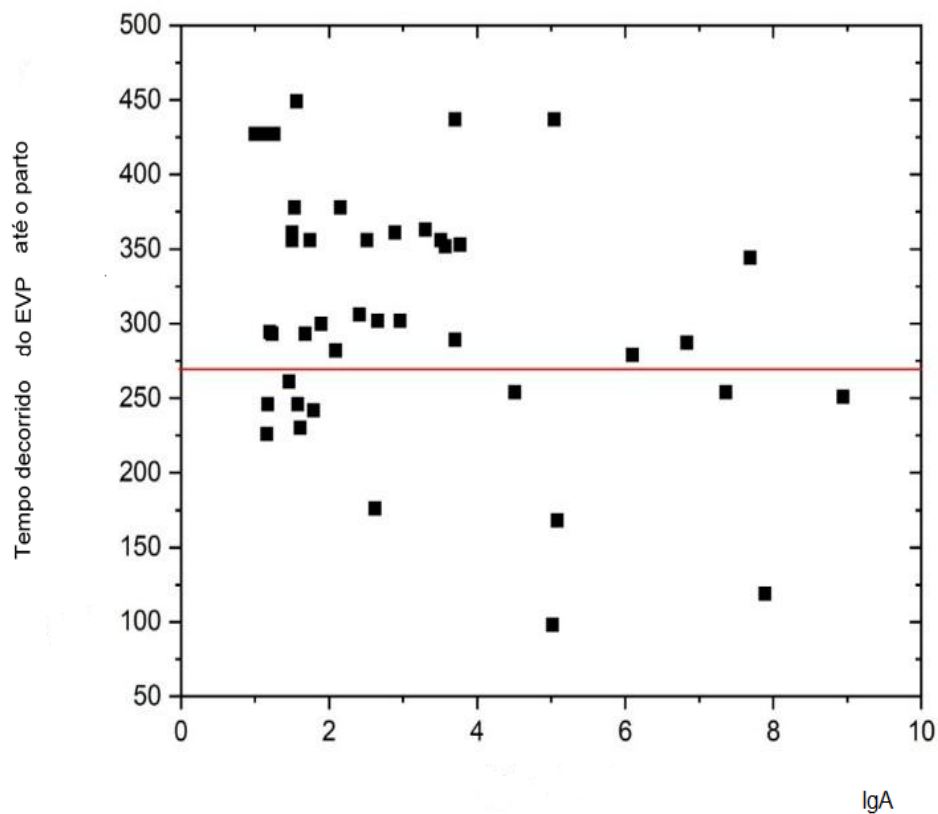
Figura 9 - Placas com evidências de Anti-SARS-CoV-2 IgGs



Pode ser observado na figura 9 a imagem da placa após os ensaios imunoenzimáticos realizados com as amostras do grupo controle (antes do processo de pasteurização) para anti-SARS-CoV-2 IgG, utilizando a nucleoproteína, apresentando evidências dessas Imunoglobulinas.

Na figura 10 pode-se conferir os resultados positivos para anti-SARS-CoV-2 IgA, o tempo decorrido do EVP até o parto e os níveis de IgA. A linha vermelha representa o tempo completo da gestação. Acima da linha vermelha são resultados positivos de Anti-SARS-CoV-2 IgA das mulheres que fizeram EVP antes da gestação. Abaixo, fizeram a EVP durante a gestação.

Figura 10 - Tempo decorrido do Esquema Vacinal Primário até o parto e IgA

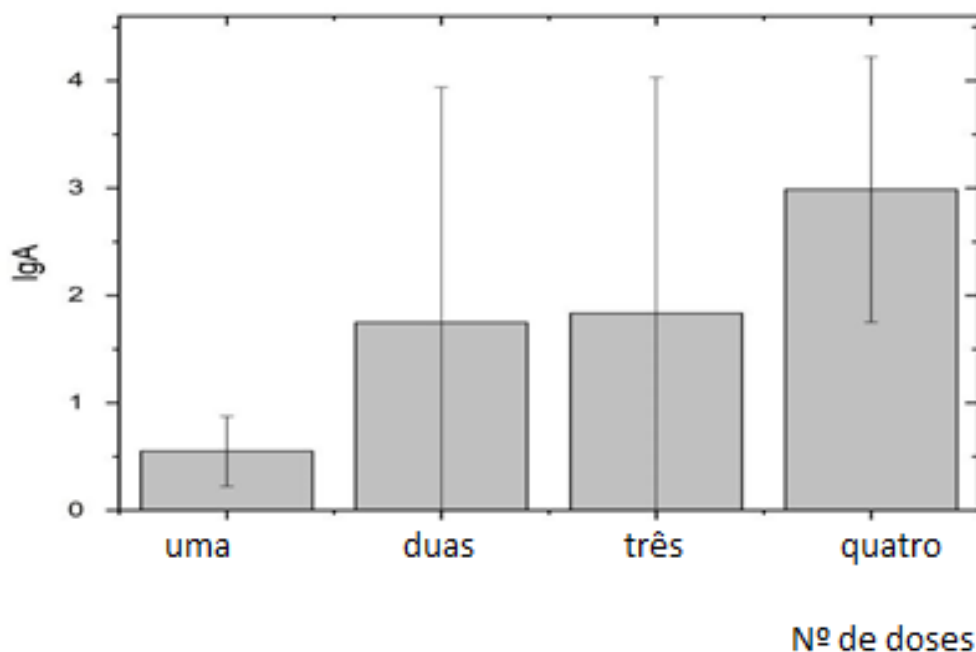


Fonte: Autoria própria

Na figura 10 observa-se que os pontos concentrados indicam maior quantidade de resultados entre aquelas mulheres que realizaram o Esquema Vacinal Primário para a Covid-19 antes da gestação.

A comparação entre os níveis de produção de anti-SARS-CoV-2 IgA e o número de doses aplicados por doadora antes do parto pode ser observado na figura 11.

Figura 11- Números de doses e níveis de produção IgA



Fonte: Autoria própria

Entre os resultados positivos de Anti-SARS-CoV IgA, observou-se níveis de produção variáveis. Verificou-se que existe diferença significativa entre realizar duas doses e quatro doses da vacina para Covid-19 antes do parto, com  $p = 0,017$ , (ver tabela 4), ou seja,  $p \leq 0,05$ . As mulheres que tomaram quatro doses da vacina antes do parto, tiveram significativamente níveis mais elevados de anti-SARS-CoV-2 IgA.

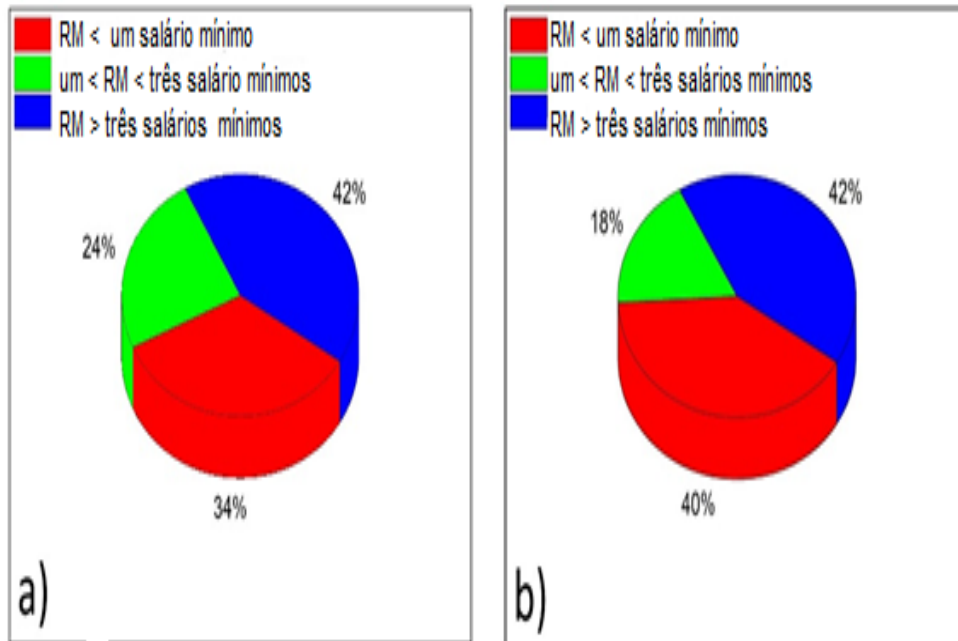
Tabela 4 - Valores de  $p$  (Comparação entre os diferentes números de doses de vacinação contra Covid-19)

	Uma	Duas doses	Três doses	Quatro doses
Uma		0,411	0,387	0,618
Duas	0,411		0,275	0,017
Três	0,387	0,275		0,881
Quatro	0,618	0,017	0,881	

Fonte: Autoria própria

Com a finalidade de estabelecer associação entre os aspectos econômicos maternos e o conteúdo de IgA, correlacionou-se as mulheres conforme a renda média em dois grupos (ver figura 12).

Figura 12 – a) Renda média de todas as mulheres que participaram deste estudo; b) Renda média de mulheres que apresentam IgA positiva no leite



Fonte: Autoria própria

Na figura 12 foi ilustrado dois gráficos, figura12a (proporção de mulheres distribuídas de acordo com renda entre todas mulheres participantes do estudo ) e na figura 12b (proporção das mulheres distribuídas de acordo com a renda apenas entre as mulheres com resultado positivo de IgA). A renda das mulheres variaram em três grupos: abaixo de um salário-mínimo, entre um e três salários e acima de três salários-mínimos. Ao realizar a comparação entre os gráficos 12a e 12b observou-se equivalência obtidas entre os grupos, na figura 12b, apesar das variações da renda média entre as mulheres que tiveram IgA, não foi observado interferência entre conteúdo IgA e proporções de mulheres com variações na renda.



## 6 DISCUSSÃO

Este estudo detectou presença de imunoglobulinas específicas para SARS-CoV-2, no LHC e LHP. Foram detectados resultados positivos para Anti-SARS-CoV-2 IgA mais frequentes entre as amostras de LH em que as doadoras fizeram EVP para Covid-19 antes da gravidez. As maiores titulações de Anti-SARS-CoV-2 IgA foram encontradas entre as doadoras que realizaram o esquema vacinal completo contra Covid-19 com quatro doses até o parto.

O calor pode provocar a destruição parcial ou total de alguns fatores protetores do LH, motivo pelo qual o LHP (submetido a uma temperatura de 62,5 °C por 30 min) pode não ter o mesmo valor biológico que o LHC (BRASIL, 2015). Neste experimento após a comparação estatística entre os grupos: LHC e LHP quanto a produção de Anti-SARS-CoV-2, não houve diferença significativa entre os grupos, com  $p \geq 0,05\%$ . Dessa forma, pode-se concluir que o processo de pasteurização não teve influência importante para a presença de anti-SARS-CoV-2 IgA nas amostras de leite humano, preservando seu valor biológico para esse anticorpo específico, assim esse leite pode ser utilizado para fins nutricionais, como terapêuticos, e pode vir a ser uma estratégia eficiente de imunização passiva.

Na literatura temos carência de estudos realizados com leite humano pasteurizado, entre os estudos realizados, foi verificado em Amsterdam no LH de 40 mães que haviam sido infectadas com Covid-19, recuperadas, e a presença de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 que se manteve na capacidade de neutralização após o processo de pasteurização por alta pressão HPP (Pasteurização de Alta Pressão, do inglês - *High Pressure Process*), o que corroboraram com os achados desse processo de pesquisa (RODRIGUEZ-CAMEJO, C et al., 2020).

O LH apresenta na sua composição, proteínas, íons, micro-organismos e outras moléculas que proveem uma gama de atuações biológicas e operam na indução da maturação intestinal e papéis estimuladores do sistema imunológico. Entre as moléculas protetoras do leite estão as caseínas, proteínas do soro do leite, triptofano, lactaderina, mucina 1, lactoferrina, e-lactalbumina e sIgA, que contribuem para a defesa do lactente contra bactérias e patógenos virais (BRASIL, 2019).

Assim, dentre os inúmeros benefícios do LH, destaca-se o fato de ser o único alimento que possui anticorpos, como pôde ser detectado presença de anticorpos específico para SARS-CoV-2. Corrobora com esses dados, um estudo realizado em Israel com 84 mulheres que amamentavam e que receberam duas doses da vacina Pfizer-BioNTech com 21 dias de intervalo, no qual foi detectado secreção robusta de anticorpos IgA e IgG específicos para SARS-CoV-2 no leite materno 6 semanas após a vacinação. Entre os anticorpos encontrados, mostraram fortes efeitos neutralizantes, implicando um potencial efeito protetor contra a infecção no lactente. Outros estudos realizados com mulheres infectadas com Covid-19 e/ou que foram vacinadas tiveram achados semelhantes, com alta prevalência de anticorpos IgA no LH contra todas as proteínas estruturais do SARS-CoV-2 (CORTÉS-SARABIA et al., 2023, PERL et al., 2021, SILVA et al., 2020).

A IgA secretória atua contra microrganismos presentes nas superfícies mucosas. Os anticorpos IgA no LH são um reflexo dos antígenos entéricos e respiratórios da mãe, ou seja, ela produz anticorpos contra agentes contagiosos que tiveram contato. Os resultados desta pesquisa reforçam a possibilidade do potencial do LH atuar como estimulante do sistema imunológico, protegendo contra a infecção em crianças, em especial contra as formas graves da doença provocada pelo novo coronavírus. Apoiando esses resultados, um estudo de Natarelli, feito com 37 amostras de LH, provenientes de mulheres que adoeceram com Covid-19, obteve-se presença de Anti-SARS-CoV-2 IgA em 76% dos resultados e anti-SARS-CoV-2 IgG em 80% dos resultados, dos anticorpos específicos detectados cerca de 62% foram capazes de neutralizar a infecciosidade do vírus *in vitro* (NATARELLI et al., 2022).

Os anticorpos secretórios, como as IgA, são predominantes no LH. Com a aplicação do Esquema Vacinal Primário contra Covid-19 antes da gravidez, as IgA foram bem mais frequentes, com destaque para as doadoras que receberam o esquema vacinal completo, com quatro doses da vacinação até o parto, apresentando uma maior titularidade de anti-SARS-CoV-2 IgA.

A secreção robusta de anticorpos IgA podem ser altamente neutralizantes específicos para SARS-CoV-2 no LH, pois esta imunoglobulina desempenha uma função primordial no combate às infecções respiratórias virais nas células da mucosa, além disso, com maior neutralização para SARS-CoV-2 que IgG. O LH traz muitos

benefícios para o bebê, porém parece não haver nenhuma transferência expressiva de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 das mães para seus filhos se vacinados após o parto (RICK et al., 2023, SABINO et al., 2022, SAJADI et al., 2023).

Alguns autores ressaltaram que o reforço materno de Covid-19 com vacinas baseadas em mRNA gerou anticorpos de leite IgG e IgA robustos e duráveis e que a vacinação contra Covid-19 durante a gravidez deriva em níveis significativos de IgG no bebê que persistem por até cinco meses e contribuem para a proteção dos bebês (RICK et al., 2023). Com essa pesquisa não foi possível correlacionar com o tipo de vacina e o nível de anticorpos específicos IgA e IgG, devido à grande variabilidade de vacinas aplicadas numa mesma mulher, ou seja, uma mesma doadora recebeu aplicações de até três tipos diferentes de vacina (Coronovac, Pfizer-bioNTech, Oxford-Fiocruz, AstraZeneca e Janssen).

Sabe-se que os anticorpos secretórios podem ser mais protetores e resistentes em ambientes mucosos, pois a IgA exerce um papel essencial contra a infecção por vírus respiratórios nas células das mucosas, e isso possibilita que esses anticorpos secretados por IgA no LH possam ser coligados a eficácia de vacinas intranasais, ou mesmo no uso terapêutico, no tratamento de infecções respiratórias (SABINO et al., 2022).

A transferência imunológica para recém-nascidos pode acontecer através da placenta e do leite materno. As vacinas de mRNA promovem a indução imunológica em mulheres grávidas e lactantes com imunogenicidade e reatogenicidade como mulheres não grávidas, observando níveis de IgG significativamente superiores aos obtidos por infecção natural. Eles mostram que as respostas de IgM e IgA foram induzidas inicialmente de forma robusta pela vacina Covid-19, mas após o reforço não houve aumento significativo. Sugerindo que o reforço pode levar a uma maior transferência de IgG para o leite humano e a uma transferência consistente de IgA não reforçada, o que destaca a necessidade de entender o que pode induzir um aumento nos níveis de IgA, um anticorpo importante para a proteção neonatal (GRAY, 2019).

Os achados dessa pesquisa ajudam a esclarecer os efeitos que podem sugerir a presença de IgA, bem como os valores mais elevados desses anticorpos secretores, no leite materno. Confirmou-se que as respostas imunológicas ao conteúdo de IgA

anti-SAR-CoV-2 foram influenciadas pela aplicação do esquema vacinal primário contra Covid-19 antes da gestação e, pela aplicação do esquema vacinal completo, com quatro doses de vacinação até o parto.

Esta pesquisa apresentou uma amostra muito heterogênea tanto em termos demográficos quanto no número de doses contra Covid-19 recebidas, no momento da inoculação e sua combinação, portanto, houve uma grande variabilidade nos dados primários, o que é importante para garantir a representatividade dos resultados para a população-alvo.

#### 6.1. LIMITAÇÕES DO ESTUDO E PERSPECTIVAS

As limitações deste estudo foram relacionadas ao número de doações das lactantes. Foram realizadas campanhas de incentivo para doação de leite humano entre as lactantes do município, com apoio das equipes da Estratégia Saúde da Família e a equipe do banco de leite da MDER, com ampla divulgação da campanha para conscientização da importância para as doações ao banco de leite materno, através de encontros, cursos e mídias sociais. Além de ampliação do tempo de coleta das amostras.

As doadoras receberam diferentes esquemas de vacinação e as mulheres que receberam até três tipos diferentes de vacinas foram incluídas. Dada essa grande variabilidade dentro de uma mesma mulher, não foi possível correlacionar os tipos de vacinas e o conteúdo de anticorpos IgA e IgG específicos. O tamanho da amostra para o estudo foi limitado por restrições de bancos de leite.

Mais estudos são necessários para investigar o significado clínico dos anticorpos SARS-CoV-2 no leite e o momento ideal da vacinação de reforço em gestantes contra o SARS-CoV-2 para proteger as crianças contra a Covid-19 e se há interferência na produção de IgA devido ao tipo de vacina aplicada. Compreender as variáveis que podem afetar o conteúdo de IgA no leite materno é fundamental para aumentar a imunidade humoral neonatal.

Todo esse cenário ressalta a grande necessidade da exploração de novas metodologias para estudos específicos de amostras de leite, bem como mais

pesquisas a respeito do leite materno, a fim de contribuir com a literatura científica atual.

Além disso, uma defasagem em ensaios mais sensíveis e específicos que pudessem corroborar com os dados obtidos, principalmente se fossem exploradas metodologias específicas para análise de anticorpos em amostras de leite, foi notável. Haja vista, que o próprio ELISA anti-SARS-CoV-2 para IgG apresentou dados pouco expressivos, mas que poderiam ser tendenciosos a limitações do próprio método adaptado, necessitando assim que outras metodologias como o estudo de anticorpos neutralizantes nestes tipos de amostras, pudessem validar se as imunoglobulinas detectadas de fato possuem atividade neutralizante e se correspondem a imunoglobulina G e não a uma reatividade cruzada de outras moléculas do LH.

## 7 CONCLUSÃO

Com essa pesquisa foi possível detectar a presença de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 IgA, nas amostras de mulheres que receberam Esquema Vacinal Primário para Covid-19. O conteúdo de anti-SARS-CoV IgA no leite materno não teve influência do processo de pasteurização, fases do leite e condições econômicas da mãe. Porém esse conteúdo sofreu interferências dos esquemas vacinais aplicados entre as mulheres e números de doses recebidas. O IgA teve uma maior positividade entre as amostras de mulheres que realizaram o Esquema Vacinal Primário antes da gravidez. E os níveis mais elevados de conteúdo de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 foram encontrados entre as mulheres que receberam o esquema vacinal completo, com quatro doses de vacina contra Covid-19 até o parto.

Esses achados confirmam a importância do aleitamento materno e da doação de leite humano para bancos de leite. Além de ser um alimento completo que favorece o crescimento e desenvolvimento do bebê, o leite materno atua como uma via de imunidade passiva da mãe ao recém-nascido, onde os anticorpos específicos do leite humano podem contribuir para fortalecer as defesas do bebê, prevenindo doenças causadas por doenças infecciosas, como a Covid-19.

Assim, com esses achados espera-se contribuir para nortear o calendário de vacinação contra Covid-19 da população em geral, em especial das gestantes, puérperas, informar a importância e a necessidade da vacinação de reforço para uma maior proteção contra a doença para o binômio (mãe e filho), reduzir a transmissão, incidência e os índices de morbimortalidade materna, infantil e neonatal.

No leite humano encontramos a presença de anticorpos secretórios, como a IgA. Acredita-se que esses anticorpos sejam mais protetores e resistentes em ambientes mucosos, pois ela desempenha um papel fundamental contra a infecção por vírus respiratórios nas células das mucosas. Assim levantamos a hipótese de que os anticorpos secretados por IgA no leite materno pode ser útil para uso terapêutico, na prevenção ou tratamento de infecções respiratórias.

Assim, esta pesquisa gera alto impacto na saúde pública a nível nacional e internacional, possibilita intensificar a vacinação das gestantes/lactantes, reduzir a transmissão, incidência e os índices de morbimortalidade materna, infantil e neonatal provocados por essa doença, e um menor custo para a saúde pública. Além de fornecer um potencial incentivo ao aleitamento materno e a ampliar as doações aos bancos de leites, como também um subsídio para o desenvolvimento futuro de novas tecnologias para uso terapêutico e/ou imunização.

## **PERSPECTIVAS FUTURAS**

A Vacina é considerada uma forma de imunidade ativa artificial e tem sido como principal função gerar imunidade, contribuindo para o controle e erradicação de doenças provocadas por vírus ou bactérias. Assim baseados nos resultados e análises demonstrados, as conclusões reforçam a importância da vacinação na população em geral, com destaque para as mulheres em idade fértil, gestantes e lactantes para a realização dos esquemas vacinais completos contra a Covid-19, ou seja, incluindo a EVP e as doses de reforço por ampliar a positividade desses anticorpos específicos e níveis de fatores protetores no leite materno, garantindo uma maior proteção contra o novo coronavírus e prevenindo agravos aos bebês.

Além disso, esses resultados indicam que o leite humano atua como via de imunidade passiva da mãe para o recém-nascido, dependendo do estado imunológico da mulher. Em busca por novas tecnologias e novas alternativas de imunização, com procedimentos que possam reduzir os custos e aumento na qualidade dos procedimentos e produtos, tem-se pautado novas discussões inclusive sobre a possibilidade de vacinas intranasais, especialistas utilizam como parâmetro a imunoglobulina IgA, encontrado em grande quantidade na região das mucosas do nariz, responsáveis por neutralizar substâncias produzidas pelos diversos microrganismos invasores.

Diante das conclusões, a detecção de Anti-SARS-CoV-2 IgA no leite humano pasteurizado, confirma que o leite humano além de ser o melhor alimento, fonte de nutrientes, vitaminas e minerais, essenciais para o crescimento e desenvolvimento

humano, também pode ser indicado para a prevenção e/ou mesmo tratamento de infecções respiratórias, como pneumonia, para os recém-nascidos prematuros ou que precisam de cuidados intensivos em UTI neonatal e/ou berçários.

Dessa forma, em continuidade a esse processo de pesquisa, o desenvolvimento de novas tecnologias para uso terapêutico e/ou imunização se fazem necessárias para que existam avanços, com possibilidade das imunoglobulinas IgA detectadas no Leite Humano pasteurizado, serem associadas a produção de vacinas intranasais, que podem ser de mais fácil uso, pela praticidade e menor custo a saúde pública.

Além de ser um potencial incentivo ao aleitamento materno, e conscientização das mulheres, em especial as de idade fértil, gestantes e lactantes para a importância esquema vacinal completo, incluindo as doses de reforço e das doações aos bancos de leite para que sejam reduzidas a transmissão, incidência e os índices de morbimortalidade materna, infantil e neonatal provocados pela Covid-19, possibilitando um menor custo para a saúde pública.



## REFERÊNCIAS

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Banco de leite humano: funcionamento, prevenção e controle de riscos. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Brasília – DF: ANVISA, 2008. 160 pp.

BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente pelo Novo Coronavírus – COVID-19. **Boletim epidemiológico especial**, Brasília: 2023, n.151, 38 pp. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/covid-19/2023/boletim-epidemiologico-no-151-boletim-coe-coronavirus>>. Acesso em: 11 de dez. de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de Imunizações. Ministério da Saúde Brasília – DF: MS, 2023. Disponível em: <<http://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/coronavirus/vacinas/esquemas-vacinais>>. Acesso em: 03 de jan. de 2024

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Saúde da criança: aleitamento materno e alimentação complementar / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica. **Cadernos de Atenção Básica**; n. 23 – 2. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.184 pp.

BRASIL. Ministério da Saúde. Atenção à saúde do recém-nascido. Guia para os profissionais de saúde. 2. ed. Brasília-DF: **Ministério da Saúde**, 2014. 194 p. Disponível em: <[https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao\\_saude\\_recem\\_nascido\\_v1.pdf](https://bvsmis.saude.gov.br/bvs/publicacoes/atencao_saude_recem_nascido_v1.pdf)>. Acesso em: 05 de jan de 2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. Guia alimentar para crianças brasileiras menores de 2 anos. Brasília-DF: **Ministério da Saúde**, 2019. 270 p. Disponível em: <[http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/guia\\_da\\_crianca\\_2019.pdf](http://189.28.128.100/dab/docs/portaldab/publicacoes/guia_da_crianca_2019.pdf)>. Acesso em: 15 março 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. Caderneta de saúde da criança. Brasília-DF: **Ministério da Saúde**, 2019. 43 p. Disponível em: <[http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/caderneta\\_saude\\_da\\_crianca.pdf](http://189.28.128.100/nutricao/docs/geral/caderneta_saude_da_crianca.pdf)>. Acesso em: 19 de abril 2023.

CARDOSO, P. C., SOUSA, T. M. de, ROCHA, D. DA S., MENEZES, L. R. D. de., & SANTOS, L. C. dos. Maternal and child health in the context of COVID-19 pandemic: evidence, recommendations, and challenges. **Revista Brasileira De Saúde Materno Infantil**, n 21 suppl 1, 2021.

CORTÉS-SARAIA, K.; GUZMAN-SILVA, V.; MARTINEZ-PAHECO, K.M.; MEZA-HERNADEZ, J.A.; LUNA-PINEDA, V.M.; LEYVA-VÁZQUEZ, M.A.; VENCES-VELÁQUEZ, A.; BELTRÁN-ANAYA, F.; DEL MORAL-HERNÁNDEZ, O.; ILLADES-AGUIAR, B. Detection of IgA and IgG Antibodies against the Structural Proteins of

SARS-CoV-2 in Breast Milk and Serum Samples Derived from Breastfeeding Mothers. **Viruses**. [serial on the Internet] v. 15, n.966, 2023.

COSTA, da GOES, C.P., GAMA, P., Importância da amamentação e seu potencial terapêutico contra SARS-CoV-2. **Physiological Reports**. n. 9, v.3, n.e14744. 2021.

DEMERS-MATHIEU, V, HUSTON, RK, Markell, A.M., MCCULLEY, E.A., MARTIN, R.L., DALLAS, D.C. Impact of pertussis-specific IgA, IgM, and IgG antibodies in mother's own breast milk and donor breast milk during preterm infant digestion. **Pediatric Research**, [serial on the Internet]; v. 89, pp.1136–1143, 2021.

GRAY, K.J. BORDT, E.A, ATYEO, C., DERISO, E., AKINWUNMI, B., YOUNG, N., BAEZ, A.M., SHOOK, L.L., CVRK, D., JAMES, K., DE GUZMAN, R., BRIGIDA, S., DIOUF, K., GOLDFARB, I., BEBELL, L.M., YONKER, L.M , FASANO, A., RABI, S.A., ELOVITZ, M.A., ALTER, G., EDLOW, A.G. Resposta à vacina contra a doença do coronavírus 2019 em mulheres grávidas e lactantes: um estudo de coorte. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. n.225, v.3,p.303.e1-303.e17, setembro de 2021 Disponível em: < [https:// doi: 10.1016/j.ajog.2021.03.023](https://doi.org/10.1016/j.ajog.2021.03.023). Epub 2021 26 de março. PMID: 33775692; PMCID: PMC7997025.> Acesso em julho de 2023

HAN AR, LEE D, KIM SK, CHOO CW, PARK JC, LEE JR, CHOI WJ, JUN JH, RHEE JH, KIM SH; Korean Society for Reproductive Medicine (KSRM); Korean Society for Reproductive Immunology (KSRI); Korean Society for Assisted Reproduction (KOSAR). Effects and safety of COVID-19 vaccination on assisted reproductive technology and pregnancy: A comprehensive review and joint statements of the.

HUNAGUND, S., GOLAN, Y., ASIODU, IV, PRAHL, M, GAW, S.L. “Effects of Vaccination Against Influenza, Pertussis, and COVID-19 on Human Milk Antibodies: Current Evidence and Implications for Health Equity.” **Frontiers in immunology**, [serial on the Internet] v.13, n.910383, 2022.

KSRM, the KSRI, and the KOSAR. **Clinical and Experimental Reproductive Medicine**; v.49, n.1, pp.2-8, 2022. Disponível em: <[https://doi: 10.5653/cerm.2022.05225](https://doi.org/10.5653/cerm.2022.05225). Epub 2022 Feb 28. PMID: 35255653; PMCID: PMC8923627> Acesso em julho de 2023

LAIS, M; THAÍS, A. R; FERNANDA, W.M.L; CARINA, C. S., GUILHERME, B.C. \pbv8 LUCAS, M.M.; MARCOS, P.; NILIA, M.B.L.P, INÊS, D. Desafios e propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para COVID 19 no Brasil. **Ciências e saúde coletiva**. n.09, p. 25., 2020.

MACHADO PRADO RAMIRO, N. C., de SOUZA PEREIRA, M., SILVA DE SOUZA, R., & AVER, L. A. Repercussões fetais e possíveis complicações da COVID-19 durante a gestação. **Saúde Coletiva (Barueri)**, n.54, pp. 2679–2690, 2020.

MAGNO, L., ROSSE, T.A., MENDONÇA-LIMA, F.W.D.E, SANTOS, C.C.D.O.S., CAMPOS, G.B., MARQUES, L.M., PEREIRA, M., PRADO, N.M. DE B.L., DOURADO, I. Desafios e propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para

COVID-19 no Brasil. **Ciência & saúde coletiva** [serial on the Internet]; v.25, n.9, pp:3355-6, 2020.

MANTIS, N.J., ROL, N., CORTHÉSY, B. Secretory IgA's complex roles in immunity and mucosal homeostasis in the gut. **Mucosal Immunology**. [serial on the Internet]; v.4, n.6, pp: 603-11, 2011. Disponível em: < [https://doi: 10.1038/mi.2011.41](https://doi.org/10.1038/mi.2011.41). Epub 2011 Oct 5. PMID: 21975936; PMCID: PMC3774538>. Acesso em: 07 de julho de 2023

MARTINS, A.V.G., DOMINGOS, V.A.C., OLIVEIRA, A.C.G. de, BOVE, V.L., HANGUI, T.N.R., SILVESTRE, M.A.S, MENDONÇA, A.K.M.S. Manejo da amamentação de mães infectadas com COVID-19: uma revisão da literatura. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v.4, n.2, pp. 9456-9472 mar. /Apr. 2021.

NATARELLI, T.R., BRASSAROLA, H.G., FONSECA, L.M. Amamentação durante a pandemia de COVID-19: o que sabemos até agora? **Einstein**. São Paulo. v.20, n. eRW6609, 2022.

PACE R.M, WILLIAMS J.E., JÄRVINEN KM, BELFORT MB, PACE CDW, LACKEY KA, GOGEL AC, NGUYEN-CONTANT P, KANAGAIH P, FITZGERALD T, FERRI R, YOUNG B, ROSEN-CAROLE C, DIAZ N, MEEHAN CL, CAFFÉ B, SANGSTER MY, TOPHAM D, MCGUIRE MA, SEPPO A, MCGUIRE M.K. Characterization of SARS-CoV-2 RNA, Antibodies, and Neutralizing Capacity in Milk Produced by Women with COVID-19. **mBio**. [serial on the Internet]; n.12, v.1, pp: e03192-20, 2021.

PERL, S.H., UZAN-YULZARI, A., KLAINER, H., et. al. Anticorpos específicos para SARS-CoV-2 no leite materno após a vacinação de mulheres que amamentam com COVID-19. **JAMA**.; n.325, v.19, pp.2013–2014. 2021.

PERL, S.H., UZAN-YULZAR, I. 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**. [serial on the Internet]; n.325, v.19):2013–2014, 2021.

Resolução - nº 466, de 12 de dezembro de 2012: **diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos**. Brasília (DF): MS; 2012. Brasil.

Resolução - RDC nº 171, de 04 de setembro de 2006. **Dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento de Bancos de Leite Humano**. Brasília (DF): MS; 2006. Brasil.

RICK, A.M., LENTSCHER, A., X.U.L., WILKINS, M.S., NASSER, A., TUTTLE, D.J., MEGLI, C., MARQUES, E.T.A., MCELROY, A.K., WILLIAMS, J.V., MARTIN, J.M. Impact of maternal SARS-CoV-2 booster vaccination on blood and breastmilk antibodies. **PLoS One**. [serial on the Internet]; v.18, n.6, pp: e0287103., 13 de jun de 2023.

RODRIGUEZ-CAMEJO, C, PUYOL, A, FAZIO, L, VILLAIL, E, ARBILDI, SONORA, C, CASTRO, M, CARROSCIA, L, HERNANDEZ, A. Impact of Holder pasteurization on immunological properties of human breast milk over the first year of lactation. **Pediatric Research** [serial on the Internet], v.87, pp:32–4, 2020.

SABINO, J.S., AMORIM, M.R., DE SOUZA .M, MAREGA L.F, MOFATTO L.S., TOLEDO-TEIXEIRA, D.A., FORATO, J., STABELI, R.G., COSTA, M.L, SPILKI, F.R., SABINO, E.C., FARIA, N. F., BENITES,B. D., ADDAS-CARVALHO, M, STUCHI, R.S.B., VASCONCELOS, V. M., GRANJA, F., PROENÇA-MODENA, ,J.L., MARIA MARLUCE, DOS S. VILELA, M.M. dos S. Clearance of Persistent SARS-CoV-2 RNA Detection in a NFkB-Deficient Patient in Association with the Ingestion of Human Breast Milk: A Case Report. **Viruses**. [serial on the Internet]; v.14, n.5, pp :1042., 2022.

SAJADI, M.M., SHOKATPOUR, N., PURCELL, M., TEHRANI, Z.R., LANKFORD, A., BATHULA, A., CAMPBELL, J.D., HAMMERSHAIMB, E.A., DEATRICK, K.B., BOR, C., PARSELL, D.M., DUGAN, C., ANDREA R. LEVINE, A.R., GRAZIOLI, A. et al. Maternal transfer of IgA and IgG SARS-CoV-2 specific antibodies transplacentally and via breast milk feeding. **PLoS ONE**. [serial on the Internet] 2023, v.18, n4 pp: e0284020, 2023

SILVA, J.F.L.M., REIS, K.M.N., REIS, M.M.N., OLIVEIRA, T.F.M., OLIVEIRA, L.M., OLIVEIRA, M.A.C.A. Aleitamento Materno: Aspectos Gerais da Importância a contra-indicação em tempos de pandemia COVID 19. **Revista Científica UNIFAGOC**. v.5, pp 50-60, 2020.

SILVA, V. G. **Normas técnicas para banco de leite humano: uma proposta para subsidiar a construção para Boas Práticas**. Tese (Doutorado em Saúde da Mulher e da Criança) – Instituto Fernandes Figueira/Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2004.

SOUZA, S.R.R. K, PEREIRA, AP, PRANDINI, N.R., RESENDE, A.C.A.P., FREITAS, E.A.M., TRIGUEIRO, T.H., WALL, M.L. Aleitamento materno em tempos COVID-19: uma revisão de literatura. **Revista Escola de Enfermagem USP**. v. 20210556, n.56, 2022.

VAN KEULEN, B.J.; ROMIJN, M.; BONDT, A.; DINGESS, K.A.; KONTOPODI, E.; VAN DER STRATEN, K.; DEN BOER, M.A.; BURGER, J.A.; PONIMAN, M.; BOSCH, B.J.; PHILIP, J.M., BROUWER CHRISTIANNE, B., GROOT, J.M., HOEK,M,L,I,W., PAJKRT, D., SANDERS, R.W. , SCHOONDERWOERD, A, TAMARA,S. ,RIAN A. H. TIMMERMANS, RAH, VIDARSSON, G. Human Milk from Previously COVID-19-Infected Mothers: The Effect of Pasteurization on Specific Antibodies and Neutralization Capacity. **Nutrients**. [serial on the Internet], v. 13, n.1645, 2021.

WENDEL, S., KUTNER, J.M., MACHADO, R.F., RITA FONTÃO-WENDEL, R., B.U.B.C, ROBERTA,F., YOKOYAMA, A., SAKASHITA,A., ACHKAR,R. ,HAMER SCHLAK, N., SCURACCHIO, P.,AMARAL,M., BEN, M.D., ARAUJO, D., SOARES, C., CAMARGO, A., KALLÁS, E., DURIGON, E., REIS, L.F., RIZZO, L.V. Screening for SARS-CoV-2 antibodies in convalescent plasma in Brazil: Preliminary lessons

from a voluntary convalescent donor program. **Transfusion**. [serial on the Internet]; v.60, pp: 2938– 2951, 2020

WERNECK, G. L. Epidemiologia e pandemia de covid-19: oportunidades para rever trajetórias e planejar o futuro. **Interface – Comunicação, Saúde, Educação**, v.27, n.e220340, 2023.

World Health Organization. **IHR procedures concerning public health emergencies of international concern (PHEIC)**. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/topicos/imunizacao>>. Acesso em: 7 de jul de 2023.

## APÊNDICE A

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, \_\_\_\_\_, RG/CPF: \_\_\_\_\_, estou sendo convidado(a) a participar do estudo “**AVALIAR A PRESENÇA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA SARS-CoV-2 NO LEITE MATERNO PÓS PASTEURIZAÇÃO**”, com objetivo de analisar presença de anticorpos SARS - CoV-2 em amostras de Leite Materno Humano (LMH) pós pasteurizados provenientes de lactantes vacinadas contra COVID 19 e correlacionar fatores que podem interferir nos resultados: idade, número de filhos, período da vacinação (gravidez ou puerpério), tipo de vacina administrada. Por ser um problema de saúde pública, diante do cenário de pandemia contra COVID 19 os centros de controle e prevenção de doenças recomendam que mulheres que amamentam sejam imunizadas, assim são necessárias evidências científicas que forneçam segurança para incentivar amplamente a vacinação nesse público. A minha participação no referido estudo será no sentido de responder um questionário, e autorizar a análise da amostra do sangue e da análise do leite materno pós pasteurização quanto a presença de anticorpos para **SARS-CoV-2**.

Fui informada de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como: Contribuir com a saúde pública, com possibilidades de direcionamentos no enfrentamento da pandemia contra a covid-19, oferecendo ferramentas que contribuam para ampliação dos grupos prioritários para a vacinação e como consequente redução dos índices de mortalidade materna e infantil por essa doença, como também apontar a possibilidade de ser realizado a partir dos anticorpos do Leite Materno um produto que possibilite imunizar outras crianças que ainda não foram contempladas com as vacinas.

Fui informada que a participação envolve os seguintes riscos de graus mínimos. Pode haver algum desconforto ou constrangimento ao responder alguma questão. No entanto, isso não me prejudicará em nenhuma hipótese, pois os dados coletados serão mantidos em sigilo, sendo assegurado total anonimato, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, me identificar destes pelos pesquisadores (Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.i e IV.3.e) e para a análise de dados serão tabulados no SPSS, sem qualquer identificação dos participantes.

Fui informada que minha participação poderá ajudar os pesquisadores a confirmar a presença de anticorpos no leite materno mesmo após o processo de pasteurização. Com isso, eu e muitas outras mães poderemos nos beneficiar no futuro por meio de incentivo a vacinação das lactantes contra a Covid-19, e mostrando a importância da doação do leite materno para a garantia dos benefícios do leite materno, e caso vocês não o tenham disponível para seus bebês. Isso ocorre porque com os resultados dessa pesquisa os bancos de leite poderão direcionar os bancos de leite para a captação de mulheres vacinadas contra a COVID-19, como doadoras de leite materno, e oferecer prioritariamente para os bebês da maternidade, contribuindo para evitar a transmissão dessa doença.

Fui informada que minha participação será de uso exclusivo para esta pesquisa e ficará sob a guarda do pesquisador assistente, em arquivo físico ou digital, por um período de cinco anos após o término da pesquisa.

Caso a pesquisa resulte em dano pessoal, conforme as Resoluções do Conselho Nacional de Saúde serão aplicadas as garantias previstas de assistência integral, gratuita e pelo tempo que for necessário e direito de solicitação de indenização, cujo mérito será julgado em sua instância adequada, conforme a Resolução CNS nº 466 de 2012, itens III.2.o, IV.3.c, V.6 e V.7. e poderão ser requeridos pela participante. Assim, você está sendo consultada sobre seu interesse e disponibilidade de participar dessa pesquisa. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper sua participação a qualquer momento. A recusa em participar não acarretará nenhuma penalidade. Quando a pesquisa for concluída e você desejar saber os resultados, o pesquisador poderá lhe informar. Além disso, uma cópia da pesquisa será disponibilizada à Maternidade Dona Evangelina Rosa - MDER e à Universidade Brasil – São Paulo e você poderá consultá-la a qualquer momento.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são: Fernanda Roberta Marciano, Nara Magalhães Carvalho (COREN-PI 158.770) e com eles poderei manter contato pelos telefones (86) 98192 0222 ou (86) 99996 8568. É garantido ao participante o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo, conforme Resolução CNS 466 de 2012, itens IV.3 e IV.4.

Tendo sido orientada quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza, objetivo e procedimentos do estudo, manifesto meu livre consentimento em participar. Estou ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Caso eu aceite participar, rubricarei cada página deste termo, apresentado em duas vias, e assinarei ao final junto ao pesquisador responsável ou pelas pessoas por ele delegadas, indicando meu consentimento em participar da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, item IV.5.d), das quais uma via me será entregue.

Em caso de reclamação ou qualquer tipo de denúncia sobre este estudo devoligar para o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Brasil (11) 4858-9224 sediado a Rua Carolina Fonseca, 235, Jd. Santana, SP- Capital ou mandar um e-mail para [comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br](mailto:comite.etica.sp@universidadebrasil.edu.br)

Teresina (PI), \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_

Pela assinatura abaixo declaro minha anuência em participar da pesquisa.

### **Participante da pesquisa**

Eu, responsável pela pesquisa acima, declaro que cumprirei todas as normas vigentes na Resolução CNS 466 de 2012, contidas nos itens IV.3 e IV.4.

### **Pesquisador responsável**

## APÊNDICE B

### INSTRUMENTO DE PESQUISA

#### CADASTRO DAS DOADORAS DO BANCO DE LEITE

Data do cadastro: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

1.Nome:

\_\_\_\_\_

RG: \_\_\_\_\_ CPF: \_\_\_\_\_ N° \_\_\_\_\_ Cartão

SUS \_\_\_\_\_

Naturalidade: \_\_\_\_\_ Data de nascimento: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ Idade da mãe:

\_\_\_\_\_ Tel: \_\_\_\_\_

Endereço:

\_\_\_\_\_

2 - Estado civil: Solteira ( ) Casada ( ) Separada judicialmente ( ) Divorciada ( ) União Estável ( )

3 - Escolaridade:

Fundamental: completo ( ) incompleto ( ) Ensino médio: completo ( ) incompleto ( ) Superior: completo ( ) incompleto ( ) Pós-Graduação: Especialização ( ) Mestrado ( ) Doutorado ( )

4 - Tipo de trabalho: Formal ( ) Informal ( ) Do lar ( )

Profissão: \_\_\_\_\_

5 - Renda familiar: Até 1 salário-mínimo ( ) 1 a 3 salários-mínimos ( ) acima de 3 salários-mínimos ( )

6 - Quantidade de filhos: Primípara ( ) até 2 ( ) de 3 a 4 ( ) acima de 4 ( )

7 - Realização do pré-natal: Sim ( ) Não ( )

Local \_\_\_\_\_

Data do parto: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ IG: \_\_\_\_\_

8- Exames realizados no Pré-natal:

HIV ( ) Reagente ( ) Não Realizado em: ( ) Não realizado

Reagente \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

CMV IGG IGM Realizado em: ( ) Não realizado

\_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Endereço: Rua Carolina Fonseca, 225, 4º Andar, Secretaria Acadêmica, Sala 201, VDFRL ( ) Reagente ( ) Não Realizado em: ( ) Não realizado

Bairro: ITAQUERA CEP: 08.230-030

UF: SP Município: SAO PAULO Reagente \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Telefone: (11)4858-9224 Fax: (11)2070-0000 E-mail: \_\_\_\_\_

HbsAg ( ) Reagente ( ) Não Realizado em: ( ) Não realizado

Reagente \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_



HTLV I / II  Positivo  Negativo Realizado em:  Não realizado

\_\_/\_\_/\_\_

Ht \_\_\_\_\_ Hb \_\_\_\_\_

Outros:

9 – Tabagismo: Sim  Não  Etilismo: Sim  Não

10- Vacinada para Covid-19? sim  não

11- Tipo de vacina:  Coronavac  Pfizer  AstraZeneca  Jansen

data da primeira dose: \_\_/\_\_/\_\_ data da segunda dose: \_\_/\_\_/\_\_

Doadora apta? Sim  Não

Avaliado por:

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
**RESPONSÁVEL PELO REGISTRO**

OBSERVAÇÕES:

## ANEXO A – TERMO DE ANUÊNCIA



### CARTA DE ANUÊNCIA

Eu, Joaquim Vaz Parente, Diretor de Ensino e Pesquisa da Maternidade Dona Evangelina Rosa situada em Teresina/ PI, declaro que a doutoranda Nara Magalhães Carvalho, pretende realizar nesta instituição o projeto de pesquisa: **“AVALIAR A PRESENÇA DE ANTICORPOS ESPECIFICOS PARA SARS –COV 2 NO LEITE MATERNO”**. Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Fernanda Roberta Marciano objetivo geral: avaliar a presença de anticorpos específicos para SARS-CoV-2 nas amostras de Leite Humano (LH) após pasteurização, no Banco de Leite Humano de uma maternidade de referência do Piauí.

Ressalto que estou ciente de que serão garantidos os direitos, dentre outros assegurados pela Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde.

- 1) Garantia da confidencialidade, no anonimato e da não utilização das informações em prejuízo dos outros;
- 2) Que haverá riscos mínimos para
- 3) a o participante da pesquisa;
- 4) Emprego dos dados somente para fins previstos nesta pesquisa;
- 5) Retorno dos benefícios obtidos através deste estudo para as pessoas e para comunidade onde o mesmo foi realizado.

Informo-lhe ainda, que a pesquisa somente será iniciada após a aprovação do Comitê de Ética em pesquisa da Universidade Brasil garantir a todos os envolvidos os referenciais básicos da bioética, isto é, autonomia, não maleficência, benevolência e justiça.

Acrescento o necessário compromisso de entrega de exemplar destinado a MDER após conclusão de pesquisa.

Teresina, 08 de setembro de 2021.

Dr. Joaquim Vaz Parente  
CRM-PI 564 CPF: 068.106.751-91  
Diretor de Ensino e Pesquisa - MDER

ASSINATURA E CARIMBO DO RESPONSÁVEL

Endereço:  
Bairro: I  
UF: SP  
Telefone:

Maternidade Dona Evangelina Rosa /MDER  
Av. Hígino Cunha, 1552 - Ilhotas  
CEP 64014-220 - Teresina - Piauí, Brasil  
CNPJ: 06.553.564/0106-05  
www.pi.gov.br



## ANEXO B

### UNIVERSIDADE BRASIL

#### **PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

#### **DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

**Título da Pesquisa:** PRESENÇA DE ANTICORPOS ESPECÍFICOS PARA SARS-CoV-2 NO LEITE MATERNO PÓS PASTEURIZAÇÃO.

**Pesquisador:** Nara Magalhães Carvalho

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 55743622.4.0000.5494

**Instituição Proponente:** UNIVERSIDADE BRASIL

**Situação da Versão do**

**Projeto:** Aprovado

**Localização atual da Versão do Projeto:** Pesquisador  
Responsável

**Patrocinador:** Financiamento Próprio

#### **DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 5.413.136

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Ressalta-se que cabe ao pesquisador responsável encaminhar os relatórios parciais e final da pesquisa, por meio da Plataforma Brasil, via notificação do tipo “relatório” para que sejam devidamente apreciadas no CEP, conforme Norma Operacional CNS nº 001/13, item XI.2.d.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

SAO PAULO, 17 de maio de 2022

**Assinado por: SILVIA CRISTINA NUNEZ**

**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Rua Carolina Fonseca, 235, térreo, Secretaria Acadêmica, Sala 2

**Bairro:** ITAQUERA **CEP:** 08.230-030

**UF:** SP **Município:** SAO PAULO

**Telefone:** (11)4858-9224 **Fax:** (11)2070-0000 **E-mail:**