

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

MARIANE DE FÁTIMA YUKIE MAEDA

**Transmissão vertical em gestantes não vacinadas com COVID-19:
coorte prospectiva**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo, para obtenção do título
de Doutora em Ciências

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira
Francisco

**São Paulo
2022**



MARIANE DE FÁTIMA YUKIE MAEDA

Versão Original

**Transmissão vertical em gestantes não vacinadas com COVID-19:
coorte prospectiva**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo, para obtenção do título
de Doutora em Ciências

Programa de Obstetrícia e Ginecologia

Orientadora: Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira
Francisco

**São Paulo
2022**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Maeda, Mariane de Fátima Yukie
Transmissão vertical em gestantes não vacinadas
com COVID-19 : coorte prospectiva / Mariane de
Fátima Yukie Maeda. -- São Paulo, 2022.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Obstetria e Ginecologia.
Orientadora: Rossana Pulcineli Vieira Francisco.

Descritores: 1.COVID-19 2.SARS-CoV-2 coronavirus
3.Doenças transmissíveis 4.Transmissão vertical de
doenças infecciosas 5.Infecções 6.Gestantes

USP/FM/DBD-374/22

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Aos meus filhos Gustavo e Gabriel.

Por tornarem meus dias mais intensos, mais confusos e, com certeza, mais felizes. No meio do caos, vocês foram a luz necessária para que eu continuasse em frente. Obrigada pelo amor incondicional, mesmo com todos os momentos de ausência.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Profa. Dra. Rossana Pulcineli Vieira Francisco, por toda a orientação e pelo suporte nessa tese. Um agradecimento especial pelo excelente trabalho exercido na Clínica Obstétrica e pela sua atuação magistral no momento mais desafiador dos últimos tempos.

À Profa. Maria de Lourdes Brizot, coordenadora da Pós-Graduação do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia, por todos os anos de dedicação e pela enorme contribuição nesse projeto. Por ser essa pessoa incansável, perfeccionista e batalhadora, sempre. Minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

Essa tese é fruto de um trabalho árduo, executado por muitas pessoas, em um momento de grande incerteza. Engraçado pensar que, depois de quase 10 anos após minha Dissertação de Mestrado, em meio a uma pandemia e com dois filhos pequenos, surgiria uma oportunidade de fazer uma Tese de Doutorado. Ouso dizer que, estranhamente, foi uma proposta inegável.

Gostaria de agradecer imensamente a todos os que fizeram parte direta ou indiretamente dessa Tese:

Ao Prof. Dr. Marcelo Zugaib, Professor Titular de Obstetrícia do Departamento de Obstetrícia e Ginecologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, por permitir todo o meu desenvolvimento profissional e acadêmico nessa que sempre foi a minha segunda casa.

Aos meus pais, Yutaka e Marina, por todos os sacrifícios realizados para que as melhores oportunidades estivessem ao meu alcance. Obrigada por me ensinarem os verdadeiros valores da vida e por me auxiliarem no difícil equilíbrio entre a maternidade e a carreira médica.

Ao meu marido Danilo, meu grande amor e parceiro de vida. Por cuidar de mim e dos nossos filhos com amor e respeito, e pelo apoio às minhas decisões. Por sonhar os meus sonhos, e dividir comigo essa jornada.

À minha família, especialmente a minha irmã, Melissa, minha sogra He Kyung Lee e minha cunhada Karina, por estarem sempre presentes e me auxiliarem na árdua missão da maternidade.

Ao Prof. Dr. Marco Antônio Borges Lopes, meu chefe e amigo. Por todas as portas abertas nesses anos, pelo carinho e pela confiança.

À Profa. Dra. Roseli Mieko Yamamoto Nomura, minha orientadora da Dissertação de Mestrado. Muito obrigada por dividir seu conhecimento e por me acompanhar nos meus primeiros rabiscos científicos.

Aos meus amigos da Clínica Obstétrica: Juliana, Cristiane, Veridiana, Gilmar, Mariana Miyadahira, Sckarlet, Tatiana, Rafaela, Antônio Amorim, e Fabricio. Muito obrigada pela amizade e por tornarem os dias e cafés mais leves.

À Prof. Dra. Silvana Maria Quintana, Dr. Fábio Roberto Cabar e Dra. Rafaela Alkmin da Costa, pela valiosa apreciação desta pesquisa quando apresentada para Qualificação.

Ao HC-FMUSP- *Obstetric COVID-19 Study Group*, que conseguiu aliar a excelência no cuidado das gestantes com COVID-19 à realização de pesquisas valiosas nessa instituição.

A todos os assistentes, aos residentes, à equipe de enfermagem e à equipe administrativa que estiveram à frente do atendimento das gestantes durante a pandemia, pelo árduo trabalho assistencial e pelo auxílio para que essa pesquisa fosse possível. Um abraço carinhoso, obrigada por estarmos juntos nessa missão.

À equipe do LIM, Mara, Ana Cristina, Salet e Isaias, pela valiosa contribuição nessa pesquisa.

À Dra. Maria Augusta Gibelli, à Dra. Silvia Maria Ibidi, ao Prof. Werther Brunow de Carvalho, à Dra. Clarisse Martins Machado, à Dra. Ester Cerdeira Sabino, à Dra. Lea Campos de Oliveira da Silva, ao Dr. Thomas Jaenisch, à Dra. Maria Cassia Mendes-Correa e ao Dr. Philippe Mayaud, pela prestimosa participação nesse projeto e na elaboração do artigo científico.

À Sra. Lucinda Cristina Pereira, secretária da Pós-Graduação, por toda disponibilidade, pelo cuidado e pela atenção de sempre.

À Stela Verzinhasse Peres, pela grande contribuição na realização da análise estatística desta pesquisa. Sua disponibilidade e paciência, mesmo nos momentos mais críticos, foram fundamentais.

A todos os **docentes e assistentes da Clínica Obstétrica,** em especial, à **Dra. Joelma Queiroz,** colega querida do HC e grande estudiosa das infecções congênitas, pela convivência tranquila e por dividir parte do seu conhecimento adquirido em todos os anos de estudo e trabalho.

A todos os **colaboradores, aos residentes, aos preceptores e à equipe de enfermagem** da Clínica Obstétrica, pela disponibilidade diária e ajuda prestimosas.

A todas as **gestantes**, razão e motivação deste estudo, minha profunda gratidão.

A todas as famílias que sofreram com a pandemia, meus sinceros sentimentos.

“Nada do que vivemos tem sentido, se não
tocarmos o coração das pessoas.”

Cora Coralina

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. *Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver) / Sistema Integrado de Bibliotecas da USP*; Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, coordenadora; Maria Claudia Pestana; Maria Cristina Cavarette Dziabas; Eliana Maria Garcia; Maria Fatima dos Santos, Maria Marta Nascimento; Suely Campos Cardoso. 3a ed. ed. amp. mod. São Paulo: SIBI/USP. 2016. (Caderno de estudos).

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

RESUMO

Maeda MFY. Transmissão vertical em gestantes não vacinadas com COVID-19: coorte prospectiva [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2022.

Introdução: A infecção pelo Coronavírus 2019 (COVID-19) possui apresentação diferenciada e de maior gravidade em gestantes. Estudos publicados previamente sugerem baixo risco de transmissão vertical, porém, a literatura ainda é escassa e heterogênea. **Objetivo:** Avaliar a possibilidade de transmissão vertical em gestantes com COVID-19, bem como elucidar os fatores de risco associados a este desfecho. **Métodos:** Trata-se de um estudo de coorte prospectivo com gestantes sintomáticas e diagnóstico confirmado de COVID-19 (swab e/ou sorologia). Para todas as pacientes, foi realizado o RT-PCR para SARS-CoV-2 no soro materno no momento do parto e em uma ou mais amostras biológicas: sangue do cordão umbilical, líquido amniótico, colostro e/ou swab da orofaringe dos recém-nascidos. A fim de determinar possíveis fatores de risco de transmissão vertical, foi investigada a associação entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a presença de SARS-CoV-2 no sangue materno e nos compartimentos fetais (líquido amniótico e/ou sangue de cordão), bem como, a influência da positividade nos compartimentos com os desfechos neonatais. **Resultados:** Foram incluídas 109 gestantes no presente estudo. Todos os compartimentos estudados apresentaram resultados positivos para SARS-CoV-2, sugerindo a possibilidade de transmissão vertical. Dentre as pacientes estudadas, 14,7% (16/109) apresentaram RT-PCR positivo no sangue materno, 13,9% (6/43) no líquido amniótico, 6,7% (7/105) no sangue de cordão, 2,1% (2/97) no colostro e 3,7% (2/54) dos recém-nascidos apresentaram RT-PCR positivo após o nascimento. O intervalo entre o início dos sintomas de COVID-19 e o parto foi inversamente associado com a positividade para SARS-Cov-2 no sangue materno ($p = 0,002$) e nos compartimentos ($p = 0,049$). Da mesma forma, a presença de SARS-CoV-2 no sangue materno apresentou associação positiva com os resultados do RT-PCR realizados no líquido amniótico e/ou sangue de cordão no momento do parto ($p = 0,001$). **Conclusões:** A transmissão vertical é possível em gestantes com COVID-19, e o intervalo entre o início de sintomas e o parto é um fator de risco para tal desfecho.

Descritores: COVID-19. SARS-CoV-2 coronavírus. Doenças transmissíveis. Transmissão vertical de doenças infecciosas. Infecções. Gestantes.

ABSTRACT

Maeda MFY. Vertical transmission in unvaccinated pregnant women with COVID-19: a prospective cohort [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2022.

Background: There is still little data on the effect of SARS-CoV-2 on the vertical transmission of the virus from the mother to her baby. **Objective:** The aim of this study is to identify the potential for and risk factors of SARS-CoV-2 vertical transmission. **Methods:** Cohort of pregnant women with confirmed COVID-19 diagnosis (positive swab and/or serology) and with reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) for SARS-CoV-2 performed in biological samples at delivery or after 48 hours after birth to determine the possible route of transmission. In all cases, RT-PCR for SARS-CoV-2 was performed in maternal serum and in at least one of the following biological samples: cord blood, amniotic fluid or colostrum and/or the oropharyngeal swab of the neonates. The association of maternal and obstetrics parameters with positive maternal blood and amniotic fluid and/or cord blood at delivery and the influence of positive SARS-CoV-2 in these compartments on neonatal outcomes were investigated. **Results:** In total, 109 pregnant women were included. All compartments evaluated showed positive RT-PCR results for SARS-CoV-2, suggesting the possibility of vertical transmission. A positive RT-PCR for SARS-CoV-2 was observed in 14.7% (16/109) maternal blood, 13.9% (6/43) amniotic fluid, 6.7% (7/105) cord blood, 2.1% (2/97) colostrums and 3.7% (2/54) neonatal swab. Duration of interval between COVID-19 symptoms to delivery was inversely associated with positive SARS-Cov-2 in the maternal blood ($p=0.002$) and in the amniotic fluid and/or cord blood ($p=0.049$). There was association between positive SARS-CoV-2 in maternal blood with positive SARS-CoV-2 in amniotic fluid and/or cord blood ($p=0.001$). **Conclusions:** The findings support that vertical transmission can occur in pregnant women with COVID-19, and that a shorter interval between maternal symptoms and delivery is an influential factor.

Descriptors: COVID-19. SARS-CoV-2 coronavirus. Communicable diseases. Infectious transmission vertical. Infections. Pregnant women.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Fluxograma da população em estudo – HCFMUSP 2020.....	44
-------------------	---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classificação da transmissão vertical do SARS-CoV-2, adaptada de Shah e cols., 2020	34
Tabela 2 -	Classificação da transmissão vertical do SARS-CoV-2, OMS 2021.....	35
Tabela 3 -	Caracterização da população em estudo - dados clínicos e demográficos maternos (N=109) - HCFMUSP 2020	45
Tabela 4 -	Caracterização da população em estudo – dados obstétricos e neonatais (N=109) - HCFMUSP 2020.....	46
Tabela 5 -	Resultados do RT-PCR para SARS-CoV-2 nas amostras coletadas no parto e após o nascimento (sangue materno, líquido amniótico, sangue de cordão umbilical, colostro e swab dos recém-nascidos; N=109) - HCFMUSP 2020	47
Tabela 6 -	Detalhes dos casos com resultados positivos para SARS-CoV-2 nas amostras em estudo (N=109) - HCFMUSP 2020	48
Tabela 7 -	Associação entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a presença de SARS-CoV-2 no sangue materno no momento do parto (N= 109) - HCFMUSP 2020	49
Tabela 8 -	Associação entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a presença de SARS-CoV-2 nos compartimentos estudados no momento do parto – líquido amniótico e sangue de cordão umbilical (N= 109) - HCFMUSP 2020.....	50
Tabela 9 -	Associação entre parâmetros neonatais e a positividade para SARS-CoV-2 nos compartimentos (líquido amniótico e/ou sangue de cordão umbilical), nos casos testados após o nascimento (N=54) - HCFMUSP 2020.....	51

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

μL	Microlitro
ACE-2	Receptor Celular da Enzima de Conversão 2
CAPPesq	Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa
CMV	Citomegalovírus
COVID-19	<i>Coronavirus disease 2019</i>
Ct	<i>Cycle Threshold</i>
DP	Desvio Padrão
FISH	Hibridização <i>In Situ</i> por Imunofluorescência
HC-FMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HU	Hospital Universitário
IC	Intervalo de Confiança
IG_P	Idade Gestacional do Parto
IG_S	Idade Gestacional do Início dos Sintomas
IHQ	Imuno-Histoquímica
IMC	Índice de Massa Corpórea
LA	Líquido Amniótico
Leve/Mod	Leve/Moderado
MERS-CoV	<i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
ml	Mililitro
N	Número
NA	Não Avaliado
OMS	Organização Mundial da Saúde
OR	<i>Odds ratio</i>
RN	Recém-Nascido
RT-PCR	<i>Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction</i>
SARS-CoV	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SARS-CoV-2	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
SRAG	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TEV	Trofoblasto Extra Viloso
TMPRSS-2	Protease Serina Transmembranar Tipo 2
UTI	Unidade de Terapia Intensiva

LISTA DE SÍMBOLOS

-	Resultado negativo
%	Por cento
+	Resultado positivo
<	Menor que
=	Igual
>	Maior que
±	Mais ou menos
≤	Menor ou igual
≥	Maior ou igual

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
2	OBJETIVOS	23
2.1	Objetivo geral	23
2.2	Objetivos específicos	23
3	REVISÃO DA LITERATURA	25
3.1	Mecanismos virais de transmissão vertical	25
3.1.1	Mecanismos virais de transmissão intrauterina	25
3.1.2	Mecanismo de transmissão intraparto	28
3.1.3	Mecanismo de transmissão vertical após o parto (amamentação)	28
3.2	Publicações sobre transmissão vertical do SARS-CoV-2	29
3.3	Critérios diagnósticos de transmissão vertical do SARS-CoV-2	33
4	MATERIAL E MÉTODOS	37
4.1	Seleção de pacientes	37
4.1.1	Critérios de inclusão	37
4.1.2	Critérios de exclusão	38
4.2	Pacientes com COVID-19 ativa (HC-FMUSP)	38
4.3	Pacientes que tiveram COVID-19 na gestação e que estavam curadas no momento do parto (HU-USP)	39
4.4	Coleta de dados	40
4.4.1	Dados clínicos	40
4.4.2	Coleta das amostras biológicas	40
4.4.3	Avaliação laboratorial	40
4.4.3.1	Diagnóstico molecular de SARS-CoV-2	40
4.4.3.2	Sorologia	41
4.4.3.3	Cultura viral	41
4.5	Análise estatística	42
5	RESULTADOS	44
5.1	Descrição dos casos com suspeita de transmissão vertical	51
6	DISCUSSÃO	54
7	CONCLUSÕES	61
	REFERÊNCIAS	63

ANEXOS	73
ANEXO A - Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria do HCFMUSP	73
ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).....	80

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Desde a sua primeira descrição na província de Hubei, China, no final de 2019, a infecção pelo vírus SARS-CoV-2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*), conhecida como COVID-19 (*Coronavirus Disease 2019*), disseminou-se rapidamente por todo o mundo, e, em março de 2020, a Organização Mundial de Saúde (OMS) decretou estado de pandemia.

A importância da disseminação da COVID-19 reside em sua elevada taxa de transmissão e potencial de evolução para quadros graves, como a síndrome respiratória aguda grave (SRAG), e o comprometimento sistêmico de órgãos como fígado, rins e coração.^{1,2} Observa-se, no entanto, que o comprometimento da doença apresenta variação significativa de acordo com as particularidades do indivíduo acometido, sendo potencialmente mais grave em idosos e pessoas com comorbidades.² Da mesma forma, as gestantes infectadas pelo SARS-CoV-2 possuem maior risco de desenvolver formas graves da doença, com taxas superiores de SRAG, internação em unidade de terapia intensiva (UTI) e óbito.³⁻⁵

Além de maior comprometimento clínico, a infecção pelo SARS-CoV-2 durante o período gestacional tem sido associada a diversos desfechos obstétricos desfavoráveis, como o parto prematuro, restrição de crescimento fetal, sofrimento fetal e óbito intrauterino.^{6,7} No entanto, alguns pontos relevantes, como o potencial de transmissão vertical do SARS-CoV-2, ainda permanecem controversos.

Define-se transmissão vertical como a passagem de uma infecção ou doença da mãe para o feto dentro do útero ou para o recém-nascido (RN) por meio da contaminação no parto ou durante a amamentação.⁸ Dessa forma, a comprovação da transmissão vertical inclui o isolamento do vírus em tecidos fetais ou placentários e/ou em amostras do RN após exclusão da contaminação intraparto com fluidos maternos (secreção vaginal, sangue ou fezes) ou por contato com outra pessoa infectada.

Até o momento, os estudos envolvendo infecções por vírus respiratórios incluindo outros beta-coronavírus, como o MERS-CoV (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*) e o SARS-CoV (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*),^{7,9} não demonstraram taxas significativas de transmissão vertical. Da mesma forma, as primeiras publicações sobre a transmissão vertical do SARS-CoV-2 evidenciaram baixo risco de transmissão intrauterina.¹⁰⁻¹⁶ No entanto, por tratar-se de doença emergente, grande parte desses resultados foi proveniente de relatos de caso, séries de casos e meta-análises dessas séries, limitando a análise dos resultados.^{6,8,13,16-21} Ainda, parcela significativa dos estudos baseou-se apenas nos

resultados dos testes moleculares e/ou sorológicos dos RN, que, isoladamente, não são capazes de excluir a contaminação após o parto e comprovar a transmissão vertical.^{10,15,16,20-22}

Em estudos subsequentes, alguns autores sugeriram a possibilidade de transmissão vertical do SARS-CoV-2 a partir da investigação sistemática de amostras biológicas, como sangue do cordão umbilical, tecido placentário, líquido amniótico (LA) e colostro, no entanto, o número de casos descritos ainda é pequeno.^{12,23-30} Vivanti e cols.³⁰ relataram um caso de transmissão vertical com comprovação da passagem transplacentária do SARS-CoV-2 por meio da análise de múltiplos compartimentos materno-fetais. Esses autores observaram alterações inflamatórias importantes e elevada carga viral em tecido placentário, sugerindo a possibilidade de passagem transplacentária do vírus por mecanismos ainda desconhecidos.

O principal receptor da entrada celular do SARS-CoV-2 é o receptor celular da enzima de conversão 2 (ACE-2),^{31,32} que é expresso em múltiplos tecidos, como os pulmões, rins, intestino e coração.³²⁻³⁵ O ACE-2 também está presente no tecido placentário, sendo encontrado no sinciciotrofoblasto, citotrofoblasto, endotélio e epitélio vascular.³⁶ No entanto, apesar do ACE-2 estar presente na placenta em todos os trimestres gestacionais,³⁷ sua expressão concomitante com a protease serina transmembranar tipo II (TMPRSS2), mediadora da ligação da proteína *spike* no ACE-2, raramente é observada, limitando a passagem transplacentária do SARS-CoV-2 por essa via.⁸

Acredita-se que outros mecanismos possam estar envolvidos na transmissão intrauterina do SARS-CoV-2. A placenta age como uma barreira física e imunológica contra as infecções fetais.⁸ O epitélio trofoblástico (em especial, o sinciciotrofoblasto), que está em contato direto com o sangue materno, representa camada crucial para proteger o feto contra as infecções maternas.³⁸ Quando essa barreira física consegue ser transposta, as células imunes presentes na interface materno-fetal atuam barrando a passagem transplacentária desses agentes.⁸ Células *natural killers*, macrófagos e linfócitos T estão presentes na interface materno-fetal, sendo elementos-chave na remodelação e implantação placentária, além de exercerem importante papel imune local.³⁸⁻⁴⁰ O sistema imunológico placentário apresenta variação dinâmica ao longo da gravidez, contribuindo para maior susceptibilidade a infecções fetais em alguns períodos da gestação.⁴¹

Estudos histológicos e imuno-histoquímicos (IHQ) com placentas de gestantes com diagnóstico de COVID-19 sugerem que a infecção pelo SARS-CoV-2 pode ser responsável por graus variados de lesões inflamatórias e alterações na perfusão tecidual.^{9,30,42-45} Essas alterações poderiam contribuir com a quebra da barreira placentária e consequente passagem transplacentária do SARS-CoV-2, predispondo à infecção fetal.⁴⁶ Assim, é possível que

algumas condições relacionadas à infecção pelo SARS-CoV-2 e às características maternas, como idade gestacional no momento da infecção, comorbidades e atividade da doença no momento do parto, poderiam associar-se à inflamação mais exuberante na placenta, elevando o risco de transmissão intrauterina em alguns grupos específicos de pacientes.

Dessa forma, a fim de determinar a possibilidade de transmissão vertical em gestantes com infecção pelo SARS-CoV-2, bem como estabelecer os possíveis fatores de risco associados a este desfecho, realizamos um estudo de coorte prospectivo com gestantes sintomáticas e diagnóstico confirmado de COVID-19 nas quais foram realizadas coletas sistemáticas de amostras biológicas no parto refletindo a exposição do feto e do RN ao vírus. Acreditamos que, de forma semelhante a outras infecções no período gestacional, a compreensão da transmissão vertical do SARS-CoV-2 durante a gravidez permitirá o entendimento e desenvolvimento de melhores estratégias de prevenção e controle na gestação.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

O presente estudo realizado em pacientes não vacinadas com diagnóstico de COVID-19 na gestação tem como objetivos:

2.1 Objetivo geral

Avaliar a possibilidade de transmissão vertical do SARS-CoV-2.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar a presença de SARS-CoV-2 no sangue materno no momento do parto;
- Identificar a presença de SARS-CoV-2 nos compartimentos no quais o feto encontra-se exposto durante a gestação (LA e sangue de cordão umbilical);
- Identificar a presença de SARS-CoV-2 no colostro materno;
- Identificar fatores de risco para a transmissão vertical do SARS-CoV-2.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

Existem diversos patógenos reconhecidos por sua capacidade de transmissão transplacentária.^{47,48} Da mesma forma, apesar de pouco frequente, a possibilidade de transmissão vertical em gestantes com COVID-19 já foi descrita por alguns autores.^{25,26,30,49} Assim, para avaliarmos a plausibilidade biológica de tal desfecho, discorreremos brevemente sobre os mecanismos de transmissão vertical conhecidos até o momento, bem como, o possível mecanismo envolvido na transmissão vertical do SARS-CoV-2.

3.1 Mecanismos virais de transmissão vertical

3.1.1 Mecanismos virais de transmissão intrauterina

A transmissão intrauterina pode ocorrer pela via transplacentária (via hematogênica) ou pela via ascendente cérvico-vaginal. A maioria das infecções congênitas ocorre pela via hematogênica, quando os patógenos presentes na circulação materna conseguem atravessar a barreira placentária, atingindo os vasos fetais e causando infecção em diversos órgãos e sistemas.⁷⁻⁸ Os patógenos podem atravessar a placenta e migrar da mãe para o feto de diversas formas, sendo as vias principais:⁸

- a. Passagem da microvasculatura endotelial materna para os trofoblastos extravilosos endovasculares (TEVs);
- b. Disseminação célula a célula, entre a célula imune materna infectada para o trofoblasto;
- c. Transcitose viral por meio de receptores.

A presença do patógeno no sangue materno é elemento crucial para a ocorrência de transmissão transplacentária. A principal via de transmissão vertical de diversos microrganismos, como o *Toxoplasma gondii*, Zika vírus e *Listeria monocytogenes*, ocorre a partir da viremia materna e consequente transferência da partícula viral para o espaço interviloso da placenta.⁵⁰ Em seguida, essas partículas atravessam o epitélio trofoblástico (sinciciotrofoblasto e citotrofoblasto), e atingem os vasos fetais e as células do estroma viloso, disseminando para outros órgãos fetais.⁸ Ao contrário de algumas doenças com elevado comprometimento fetal como o Zika vírus, que possui viremia mais elevada e duradoura em

gestantes,⁵¹ o SARS-CoV-2 raramente é isolado no sangue⁵² dos indivíduos infectados. Na infecção pelo SARS-CoV-2, a presença de viremia mais elevada geralmente está associada à gravidade da doença, sendo raramente observada nos pacientes com quadros clínicos leves.⁵³

Outro possível mecanismo de passagem transplacentária ocorre a partir da intermediação por alguma célula materna infectada. Os TEVs formam colunas de células nas extremidades dos vilos de ancoragem e estão em contato direto com as células imunes e os vasos sanguíneos maternos, sendo, portanto, um local de transição entre os tecidos maternos e fetais.⁸ Alguns agentes infecciosos como o *Toxoplasma gondii* possuem a capacidade de se replicar nas células presentes na interface materno-fetal,⁵⁰ sendo, depois, transferidos para os TEVs proximais. Dessa forma, as células imunes maternas atuam como vetores de transmissão dos agentes infecciosos para as vilosidades coriônicas e vasos fetais. Este fenômeno também pode ser observado nas infecções pelo Zika vírus,⁵⁴ nas quais a replicação viral ocorre nos citotrofoblastos e nas células de Hofbauer (macrófagos fetais), e nas infecções pelo citomegalovírus (CMV)⁵⁵ que se replicam nos macrófagos, células dendríticas e citotrofoblastos, com subsequente propagação célula a célula. Em relação ao SARS-CoV-2, observa-se que o vírus é capaz de infectar monócitos, porém, com baixa capacidade de replicação,¹⁴ sendo, portanto, improvável que a passagem transplacentária ocorra por essa via.

A passagem pela placenta também pode ocorrer por meio de receptores específicos, como, por exemplo, nas infecções pelo CMV.⁵⁶ O SARS-CoV-2 é um beta coronavírus composto por proteína *spike*, envelope, membrana e proteínas do nucleocapsídeo, envolvendo um RNA fita única. Para infectar as células humanas, o SARS-CoV-2 utiliza o receptor ACE-2 e a TMPRSS2 para realizar o *priming* proteico, permitindo a fusão do vírus com as membranas celulares.⁵⁷ Dessa forma, a presença concomitante do ACE-2 e do TMPRSS2 na superfície celular é um indicador biológico de susceptibilidade da entrada do vírus na célula. Comparativamente a outros órgãos como o fígado e pulmões que apresentam expressão concomitante do ACE-2 e TMPRSS2,⁵⁸ a placenta apresenta expressão do ACE-2 em todos os trimestres gestacionais,³⁷ no entanto, o TMPRSS-2 raramente é observado após a 15^a semana de gestação, limitando a transmissão vertical por essa via.^{14,59} Colson e cols.,⁶⁰ em estudo com 31 placentas de gestantes com COVID-19, observaram que os trofoblastos de termo, mesmo na presença do ACE-2 e TMPRSS2, são resistentes à infecção pelo SARS-CoV-2, sugerindo o envolvimento de outros mecanismos de transmissão vertical.

A passagem de um patógeno pela placenta também pode ocorrer por meio da perda da integridade do SCT por eventos injúrico/isquêmicos, levando ao aumento da permeabilidade das membranas e consequente transmissão vertical do vírus, mesmo na ausência de infecção

placentária.⁸ Esse é um dos mecanismos possivelmente envolvidos na transmissão vertical do SARS-CoV-2, em que a inflamação decorrente da resposta imune ao patógeno poderia levar a alterações hipóxico-isquêmicas na interface materno-fetal, aumentando a permeabilidade da barreira placentária e consequente exposição fetal ao vírus.^{43,61}

O sinciciotrofoblasto é o mecanismo de defesa celular mais importante da interface materno-fetal. Ele está em contato com o sangue materno que circula no espaço intervilososo, sendo exposto diretamente aos patógenos presentes na circulação materna.³⁸ O sinciciotrofoblasto possui características intrínsecas muito importantes que inibem a passagem dos patógenos para a circulação coriônica e para o feto. É composto por uma única camada celular, sem junções, e formado por uma densa rede citoesquelética que funciona como uma eficiente barreira física.³⁸ Ainda, aumentam a efetividade dessa barreira a produção de compostos antivirais como os interferons do tipo III (IFN- λ) e os receptores de superfície da imunoglobulina G neonatal FcRn e Fc γ RIII, que podem facilitar o transporte ativo de anticorpos protetores para o feto.³⁸ Além desses mecanismos de defesa, o sinciciotrofoblasto possui altas taxas de autofagia basal, um processo antimicrobiano que pode restringir a replicação de diversos patógenos intracelulares.⁶²

Devido ao seu papel crítico na interface materno-fetal, a destruição do trofoblasto pode servir como potencial mecanismo de invasão viral nas vilosidades coriônicas, permitindo a entrada do patógeno na circulação fetal.

Estudos histológicos de placentas de gestantes com COVID-19 são cruciais para o entendimento da resposta materno-fetal à infecção viral. Baerger e Heller,⁴² em estudo com placentas provenientes de gestantes com COVID-19, observaram alterações histológicas placentárias em 50% dos casos estudados; em 9/20 placentas (45%), observou-se sinais de má-perfusão vascular como depósito intramural de fibrina, focos de cariorrexe estroma-vascular vilosa e múltiplas lesões.

Schwartz e Morotti⁴⁴ identificaram um padrão de alterações histológicas nas placentas infectadas pelo SARS-CoV-2. Os autores observaram que, diferentemente dos casos de gestantes com COVID-19 sem evidência de transmissão vertical, os casos com transmissão transplacentária confirmada apresentavam uma alteração conhecida como intervilosite histiocítica crônica, caracterizada pelo acúmulo de histiócitos e de outras células inflamatórias no espaço intervilososo, associado a outras alterações como a necrose dos trofoblastos e a infecção do sinciciotrofoblasto pelo SARS-CoV-2.

Da mesma forma, Schwartz e cols.⁴⁵ realizaram análise histológica e IHQ de 11 placentas de gestantes com infecção por SARS-CoV-2 (seis casos nativos; cinco casos de óbito

intrauterino). Todos os casos de infecção fetal apresentaram sinais de intervilosite histiocítica crônica, necrose trofoblástica e forte positividade para SARS-CoV-2 nos sinciciotrofoblastos. Outros achados placentários inespecíficos foram descritos nos casos sem comprovação de transmissão placentária, incluindo sinais de má perfusão vascular e lesões inflamatórias, como corioamnionite, fusinite e vilite, sugerindo que o grau de alteração placentária esteja diretamente relacionado à transmissão vertical pelo SARS-CoV-2.

3.1.2 Mecanismo de transmissão intraparto

A transmissão vertical também pode ocorrer durante o trabalho de parto e o parto, e é proveniente do contato do RN com secreções maternas como sangue, secreção vaginal, urina e fezes. O SARS-CoV-2 raramente é detectado em secreção vaginal,^{25,63} porém, alguns autores demonstram que a expressão nas fezes é elevada, sendo possível foco de contaminação intraparto.⁶⁴

Em estudo com 42 pacientes com COVID-19 diagnosticada na gestação ou até 36 horas após o parto, Ferrazzi e cols.⁶⁵ observaram apenas três RN positivos para SARS-CoV-2; destes, dois nascidos de parto vaginal (1/24), e dois casos de parto cesáreo (2/18). Da mesma forma, Walker e cols.,⁶⁶ em revisão sistemática envolvendo 49 publicações, descreveram 28 casos (28/666) de RN positivos após o nascimento, compreendendo 4% de transmissão vertical; desses, oito casos nasceram de parto normal (8/292; 2,7%) e 20 de parto cesáreo (20/374; 5,3%), sugerindo que a via de parto não influencia o risco de transmissão vertical em gestantes com infecção pelo SARS-CoV-2.

Resultados semelhantes foram descritos por Angelidou e cols.⁶⁷ Em estudo avaliando 255 gestantes com COVID-19 na gestação, não foi observada relação entre a via de parto e a positividade do swab dos RNs (OR 0,39; IC 0,12-1,22 - p = 0,11). Apesar do número limitado de publicações sobre a transmissão intraparto do SARS-CoV-2, até o momento, as evidências sugerem que não há associação entre o risco de transmissão vertical e o parto vaginal.

3.1.3 Mecanismo de transmissão vertical após o parto (amamentação)

A transmissão após o nascimento pode ocorrer durante a amamentação pela excreção do patógeno no leite ou pela contaminação por outras vias, como as secreções respiratórias maternas. Patógenos como o vírus da imunodeficiência humana (HIV) podem infectar o RN por meio do contato do vírus presente no leite com o trato gastrointestinal do lactente. Alguns

autores têm reportado a presença ocasional do SARS-CoV-2 no leite materno, porém, sem confirmação de infecção do RN por essa via.^{25,68-70} Kilic e cols.⁶⁸ investigaram a presença de SARS-CoV-2 no colostro obtido de 15 pacientes com COVID-19, totalizando 26 amostras. Das 15 pacientes estudadas, quatro apresentaram PCR positivos para SARS-CoV-2 no colostro. Esses autores ressaltam que uma das pacientes com resultado positivo não estava amamentando, excluindo a possibilidade de contaminação reversa do leite pelas secreções do RN.

Da mesma forma, Costa e cols.⁶⁹ investigaram a presença do SARS-CoV-2 no colostro materno por meio da realização de PCR em seis amostras obtidas de duas pacientes. Os autores observaram que metade das amostras avaliadas apresentou resultados positivos (3/6). Em uma das pacientes, a análise de tecido placentário e de sangue de cordão também apresentou PCR positivos para SARS-CoV-2; a segunda paciente apresentou todas as amostras negativas. Ambos os RN permaneceram assintomáticos, sugerindo que a expressão do SARS-CoV-2 no colostro pode ocorrer de forma intermitente, no entanto, a identificação do vírus no colostro não apresenta nenhum significado clínico relevante.

Chambers e cols.⁷¹, em estudo com amostras de leite materno obtidos de lactantes com COVID-19 (RN a 19 meses de vida), observaram um caso positivo para SARS-CoV-2 dentre as 18 pacientes estudadas. Nessa paciente, foram coletadas múltiplas amostras de leite materno: dois dias antes dos sintomas e dias um, 12 e 41 de sintomas. Apenas a amostra obtida no primeiro dia de sintomas apresentou resultado positivo. Ainda, a cultura viral dessa amostra foi negativa, sugerindo que, apesar de sua rara expressão no leite materno, o SARS-CoV-2 não apresenta capacidade de se replicar nesse ambiente, sendo, portanto, incapaz de provocar infecção no RN.

Dessa forma, até o momento, não há dados suficientes que comprovem a transmissão vertical do SARS-CoV-2 pelo leite materno, sendo o aleitamento estimulado em todos os casos, com as devidas precauções respiratórias e de contato durante a fase ativa da doença.

3.2 Publicações sobre transmissão vertical do SARS-CoV-2

Desde o início da pandemia, houve um crescente interesse no potencial de comprometimento fetal nas pacientes com infecção pelo SARS-CoV-2 durante a gestação. De forma semelhante ao observado com outras infecções respiratórias como o SARS-CoV, MERS, influenza, parainfluenza e metapneumovírus,⁷ as primeiras publicações sobre o tema foram tranquilizadoras, sugerindo pouco ou nenhum risco de transmissão vertical em gestantes com COVID-19.^{10-12,19} No entanto, com a propagação da pandemia e consequente comprometimento

de maior número de gestantes, começaram a surgir as primeiras publicações de RNs com PCR positivo para SARS-CoV-2 após o parto, aumentando os questionamentos sobre a inocuidade da COVID-19 durante a gestação.^{17,19,20,23,72}

Em fevereiro de 2020, Wang e cols.²³ reportaram o primeiro caso de infecção neonatal proveniente de uma gestante com COVID-19. O RN apresentou um resultado de PCR de nasofaringe positivo para SARS-CoV-2 36 horas após o nascimento, associado a alterações laboratoriais (linfopenia e elevação das transaminases) e radiológicas sugestivas de pneumonite viral. Nesse caso, a gestante e o RN apresentaram quadro clínico leve, e a possibilidade de transmissão vertical não pôde ser confirmada, uma vez que o PCR da placenta e do cordão umbilical foram negativos.

Alzamora e cols.¹⁷ relataram o caso de uma gestante que desenvolveu insuficiência respiratória causada pela COVID-19, submetida a parto cesáreo por piora clínica materna com 33 semanas de gestação. Após o parto, o RN permaneceu isolado da mãe, e, após 16 horas do nascimento, apresentou PCR positivo para SARS-CoV-2, confirmado após 48 horas de vida. O resultado da sorologia do RN (IgM e IgG) foi negativo. Da mesma forma, Li e cols.⁷² e Yu e cols.¹⁹ também reportaram um caso de infecção neonatal diagnosticada após o parto, mesmo diante de medidas protetivas. Os resultados do PCR realizados 36 horas e três dias após o nascimento foram positivos. Nesses três casos, não foram realizadas avaliações em amostras de placenta, LA e sangue de cordão umbilical.

Em março de 2020, Dong e cols.²⁰ reportaram o caso de uma gestante submetida a parto cesáreo 23 dias após diagnóstico de COVID-19, cujo RN apresentou anticorpos (IgM e IgG) positivos para SARS-CoV-2 duas horas após o nascimento. Considerando que o IgM não apresenta passagem placentária, este achado sugere uma possível infecção intrauterina. No entanto, o RN apresentou testes moleculares negativos após o nascimento, e nenhuma amostra de LA ou sangue de cordão foi coletada na ocasião. Ainda, sabe-se que a sensibilidade e especificidade do IgM é muito variável, e, na ausência de outros resultados concordantes, torna-se difícil a exclusão de um resultado falso-positivo.⁴⁶

Apesar dos resultados iniciais indicarem baixa probabilidade de transmissão vertical e infecção neonatal, grande parte dessas primeiras publicações são relatos de casos,^{17,20,23,72} séries de casos,^{11,12,73} revisões sistemáticas^{6,16,18} e metanálises²⁸ dessas séries, com menor nível de evidência científica.

Com o avanço da pandemia, outras coortes maiores foram publicadas, reforçando a possibilidade de transmissão vertical do SARS-CoV-2 em uma pequena parcela dos casos. Zeng e cols.,²¹ em coorte realizada em Hospital de Wuhan, China, avaliaram 33 RN nascidos de

gestantes com diagnóstico de COVID-19. Dentre os casos estudados, três apresentaram PCR de nasofaringe e anal positivos para SARS-CoV-2; todos nascidos de parto cesáreo, dois a termo e um prematuro (31 semanas e dois dias) indicado por sofrimento fetal. Apenas o terceiro caso apresentou quadro clínico mais grave, que pode ser atribuído a outros fatores, como a prematuridade; os outros dois casos apresentaram quadro clínico leve e autolimitado.

Da mesma forma, resultados iniciais do estudo PRIORITY⁷⁴ realizado com 263 gestantes, sendo 179 com PCR positivo para SARS-CoV-2 e 84 gestantes com PCR negativo, sugeriram baixa taxa de transmissão vertical (2/56 - 1,1%). Entre os 263 RNs incluídos no estudo, a incidência de desfechos adversos (parto prematuro, admissão em UTI e comprometimento respiratório) não diferiu entre os grupos e nenhuma complicação como pneumonia ou infecção do trato respiratório inferior foi relatada nesta coorte até oito semanas de vida.

Angelidou e cols.⁶⁷ realizaram estudo multicêntrico envolvendo 11 hospitais em Massachussets, Estados Unidos, a fim de avaliar o prognóstico neonatal nos casos de infecção perinatal. Foram incluídos 255 RN oriundos de gestantes com COVID-19 diagnosticados entre três e quatorze dias antes do parto. A maioria das pacientes era assintomática (68%), e, dentre as pacientes que apresentaram sintomas, a maior parte correspondia a sintomas leves/moderados (56/79; 70,9%). Dentre os RN testados, houve cinco resultados positivos (5/225), correspondendo a 2,2% dos casos.

Em estudo caso-controle, Cardona-Pérez e cols.⁷⁵ observaram prevalência da doença de 29% dentre as 240 gestantes rastreadas para COVID-19. Das 70 pacientes positivas, 86% eram assintomáticas e apenas uma gestante precisou ser internada em UTI. Dos 217 RN vivos, 39 realizaram RT-PCR para SARS-CoV-2 24 horas após o nascimento, resultando nove RN positivos (23%). Essa taxa de prevalência é bem maior do que a observada por outros autores, porém, salienta-se que esse não foi o principal objetivo desse estudo e não houve a pesquisa de SARS-CoV-2 em nenhuma amostra biológica materna ou fetal. Nesse grupo, observou-se maior taxa de complicações neonatais, como maior prevalência de distúrbios respiratórios, maior tempo de hospitalização ($p < 0,001$) e internação em UTI neonatal (44% *versus* 22%, $p < 0,005$).

Huntley e cols.¹⁶ publicaram metanálise com 13 séries de casos totalizando 538 pacientes, a fim de avaliar as possíveis complicações maternas e fetais associadas à COVID-19. Dentre o grupo selecionado, 75,3% das pacientes apresentavam sintomas relacionados à COVID-19, sendo 87,2 % com comprometimento leve e 3% (8/263) dos casos necessitando de cuidados em UTI. Nenhum óbito materno foi registrado. A taxa de prematuridade foi de 20,1 %, e nenhum caso de transmissão vertical foi observado no grupo estudado. Yan e cols.,²⁷ em estudo multicêntrico retrospectivo com 116 casos de gestantes com diagnóstico de COVID-19, não

observaram aumento nas taxas de complicações como abortamento e parto prematuro espontâneo. Da mesma forma, nenhum dos 86 RN (86/100) testados obtiveram RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 e as amostras de LA, sangue de cordão (0/10), secreção vaginal (0/6) e colostro (0/12) foram negativas.

Apesar da casuística mais robusta, grande parte das publicações até o momento avaliou gestantes assintomáticas ou oligo sintomáticas, não representando os casos de maior comprometimento materno. Ainda, grande parte desses estudos classificou como transmissão vertical apenas o isolamento do RNA viral no RN, não sendo possível excluir a transmissão horizontal ou a colonização transitória pelo contato com fluidos maternos.

Sabe-se que a comprovação da passagem transplacentária do vírus requer o isolamento do RNA viral em tecidos placentários e/ou fetais, livres de qualquer contaminação ambiental. No entanto, até o momento, poucos autores realizaram avaliação sistemática de tecidos biológicos que pudessem comprovar a passagem transplacentária do SARS-CoV-2.^{12,25-27,30,76}

Chen e cols.¹² descreveram, em março de 2020, uma série de nove casos de gestantes com COVID-19 diagnosticadas no terceiro trimestre da gestação. Todas as gestantes apresentaram sintomas relacionados à infecção pelo SARS-CoV-2, no entanto, nenhuma paciente apresentou quadro clínico grave, com suporte ventilatório ou internação em UTI. Todos os RN realizaram RT-PCR para SARS-CoV-2, com resultados negativos. Em 6/9 casos, foi possível realizar a coleta de LA, sangue de cordão umbilical e colostro, também negativos para SARS-CoV-2.

Alguns autores demonstraram que a ocorrência de transmissão vertical do SARS-CoV-2 é possível.^{25,30,49} Zaigham e cols.⁴⁹ relataram o caso de uma gestante de 34 semanas submetida a parto cesáreo de urgência por sofrimento fetal. Essa gestante encontrava-se com quadro clínico sugestivo de COVID-19, confirmado por RT-PCR de nasofaringe na ocasião do parto. Esses autores observaram alterações histopatológicas sugestivas de infecção pelo SARS-CoV-2, além do isolamento do RNA viral no tecido placentário. O RN permaneceu isolado por 60 horas e apresentou RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 com 48 horas de vida e soroconversão (IgM e IgG positivos) no 14º dia de vida, sugerindo infecção intrauterina.

Vivanti e cols.³⁰ relataram um caso de uma gestante de 35 semanas com diagnóstico de COVID-19 (PCR nasofaringe, vaginal e sangue materno) submetida a parto cesáreo cinco dias após o início de sintomas, indicado por sofrimento fetal. Foram realizados PCR para SARS-CoV-2 em amostras do LA, sangue de cordão, placenta e do RN (retal e nasofaringe). Todos os resultados foram positivos. A análise IHQ da placenta evidenciou inflamação local importante e elevada carga viral, sugerindo infecção placentária. O RN apresentou alterações neurológicas após o nascimento, como irritabilidade, dificuldade de alimentação, hipertonia axial e

opistótono, sendo excluídas outras causas como infecções e doenças metabólicas. O RN recebeu alta no 18º dia de vida, após melhora do quadro neurológico.

Fenzia e cols.²⁵ realizaram estudo prospectivo com 31 gestantes com COVID-19 a fim de avaliar a possibilidade de transmissão vertical por meio da análise de múltiplos espécimes biológicos (swab nasofaríngeo materno e do RN, secreção vaginal, plasma de cordão umbilical, biópsia de placenta e cordão umbilical, LA e leite materno). Os autores encontraram PCR positivo para SARS-CoV-2 em 6% das amostras de sangue materno (2/31), ambas provenientes de pacientes graves. Ainda, os autores detectaram o genoma do SARS-CoV-2 em uma amostra de sangue de cordão umbilical (3,2%), duas placentas (6,4%), um swab vaginal (3,2%) e em uma amostra de leite (1/11; 9,1%). Além disso, observaram a presença de anticorpos IgM e IgG anti-SARS-CoV-2 em uma amostra de sangue do cordão umbilical (1/30) e em uma amostra de leite (1/10). Em um dos casos analisados, identificou-se a presença do RNA viral em swab vaginal, tecido placentário, cordão umbilical e PCR de nasofaringe do RN, confirmando a transmissão vertical segundo a classificação de Shah e cols.⁷⁷ O segundo caso apresentou RNA viral em tecido placentário e no swab do RN coletado imediatamente após o parto; porém, o segundo swab realizado 24-48 horas após o parto apresentou resultado negativo, e o caso foi classificado como *possível* transmissão intraparto.

Dessa forma, diante do exposto acima, acredita-se que a transmissão vertical do SARS-CoV-2 é possível em pequena parcela das gestantes, porém a taxa de transmissão vertical e os fatores associados a tal desfecho ainda não estão bem estabelecidos.

3.3 Critérios diagnósticos de transmissão vertical do SARS-CoV-2

A fim de uniformizar as diversas publicações sobre o tema, alguns autores⁷⁷⁻⁷⁹ procuraram categorizar a transmissão vertical do SARS-CoV-2 de acordo a probabilidade do evento. A classificação dos casos de acordo com critérios pré-estabelecidos possibilita a comparação dos achados entre os diversos estudos, possibilitando a escolha de medidas mais apropriadas para o seguimento e orientação das gestantes.

Na categorização publicada por Shah e cols.,⁷⁷ são descritas cinco categorias de probabilidade de infecção: confirmada, provável, possível, improvável e não infectado. A classificação de Shah e cols.⁷⁷ de transmissão intrauterina do SARS-CoV-2 nos casos de RN vivos encontra-se resumida na Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação da transmissão vertical do SARS-CoV-2, adaptada de Shah e cols., 2020

Infecção congênita em RN vivo		
Mãe com infecção pelo SARS-CoV-2 confirmada e RN com quadro clínico sugestivo	Confirmada	PCR positivo para SARS-CoV-2 no sangue de cordão umbilical* ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida ou LA**
	Provável	PCR positivo para SARS-CoV-2 em swab de nasofaringe do RN logo após o nascimento*** E swab positivo da face fetal da placenta em RN nascido de parto cesáreo antes da rotura de membranas
	Possível	PCR negativo para SARS-CoV-2 em swab de nasofaringe do RN E sorologia positiva (IgM) para SARS-CoV-2 no sangue de cordão umbilical ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida OU PCR positivo em tecido placentário
	Improvável	PCR negativo para SARS-CoV-2 em swab de nasofaringe do RN, sangue de cordão umbilical, sangue do RN (coletado nas primeiras 12 horas de vida) e/ou LA E sorologia desconhecida
	Não infectado	PCR negativo para SARS-CoV-2 em swab de nasofaringe do RN, sangue de cordão umbilical, sangue do RN (coletado nas primeiras 12 horas de vida) ou LA E sorologia (IgM) negativa no sangue de cordão umbilical ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida
Mãe com infecção pelo SARS-CoV-2 confirmada e RN assintomático	Confirmada	PCR positivo para SARS-CoV-2 no sangue de cordão umbilical* ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida
	Provável	PCR positivo para SARS-CoV-2 no LA** E PCR negativo no sangue de cordão umbilical ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida
	Possível	Sorologia positiva (IgM) para SARS-CoV-2 no sangue de cordão do RN ou PCR positivo em tecido placentário E PCR negativo no sangue de cordão umbilical ou sangue do RN coletado nas primeiras 12 horas de vida ou LA
	Improvável	PCR negativo para SARS-CoV-2 em sangue de cordão umbilical, sangue do RN (coletado nas primeiras 12 horas de vida) e/ou LA E sorologia desconhecida
	Não infectado	PCR negativo para SARS-CoV-2 em sangue de cordão umbilical, sangue do RN (coletado nas primeiras 12 horas de vida) ou LA E sorologia (IgM) negativa no sangue de cordão.

Fonte: Adaptada de Shah e cols., 2020.⁷⁷

PCR: *polymerase chain reaction*; LA: líquido amniótico; RN: recém-nascido; IgM: imunoglobulina M

* Coletado de forma estéril, após limpeza do cordão umbilical

** Amostras coletadas durante o parto cesáreo, antes da rotura de membranas

*** Swab realizado após limpeza do RN

Em fevereiro de 2021, a OMS⁷⁸ também divulgou uma definição e categorização da transmissão vertical do SARS-CoV-2. O sistema de classificação proposto pela OMS para determinar a probabilidade de transmissão vertical e o momento da infecção fetal/ neonatal pelo SARS-CoV-2 é baseado em três elementos:

- 1) Comprovação de infecção materna durante qualquer período da gestação;
- 2) Exposição fetal intrauterina ou no momento do parto ao SARS-CoV-2;
- 3) Persistência do SARS-CoV-2 ou da resposta imune no feto/RN.

Para o nosso estudo, utilizamos a categorização proposta pela OMS (Tabela 2).⁷⁸

Tabela 2 - Classificação da transmissão vertical do SARS-CoV-2, OMS 2021

(#1) Infecção materna: suspeita, provável ou confirmada, durante a gestação.		
Classificação	(#2) Exposição fetal intrauterina	(#3) Persistência viral/resposta imune
Confirmada	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, <24 horas - RT-PCR de amostra estéril* - Tecido placentário (RT-PCR ou FISH) - RT-PCR de amostra não estéril** - Sorologia (IgM ou IgA)	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, entre 24-48 horas de vida - RT-PCR de amostra estéril*
Possível	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, <24 horas - RT-PCR de amostra estéril* - Tecido placentário (RT-PCR ou FISH, IHC ou microscopia) - RT-PCR de amostra não estéril** - Sorologia (IgM ou IgA)	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, entre 24-48 horas - RT-PCR de amostra não estéril** OU - Sorologia (IgM ou IgA) entre 24 horas-7 dias
Improvável	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, <24 horas - RT-PCR de amostra estéril* - Tecido placentário (RT-PCR, FISH, IHQ ou microscopia), swab placenta - RT-PCR de amostra não estéril** - Sorologia (IgM ou IgA)	Todos os testes realizados entre 24-48 horas de vida negativos para SARS-CoV-2 - RT-PCR de amostra estéril* - RT-PCR de amostra não estéril** OU - Sorologia negativa (IgM ou IgA) entre 24 horas-7 dias
	Todos os testes comprovando exposição fetal intraútero negativos	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, entre 24-48 horas - RT-PCR de amostra estéril* - RT-PCR de amostra não estéril** OU - Sorologia positiva (IgM ou IgA) entre 24 horas-7 dias
Indeterminada	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, <24 horas - RT-PCR de amostra estéril* - Tecido placentário (RT-PCR, FISH, IHQ ou microscopia), swab placenta - RT-PCR de amostra não estéril** - Sorologia (IgM ou IgA)	Persistência viral ou resposta imune fetal não comprovada
	Avaliação da exposição fetal intraútero não realizada	Um ou mais amostras positivas para SARS-CoV-2, entre 24-48 horas - RT-PCR de amostra estéril - RT-PCR de amostra não estéril* OU - Sorologia positiva (IgM ou IgA) entre 24 horas-7 dias

Fonte: Categorização proposta pela OMS, 2021⁷⁸.

RT-PCR: real time polimerase chain reaction; FISH: Hibridização *in situ* por imunofluorescência, IHQ: imunohistoquímica.

*Amostra estéril: LA (coletado com técnica estéril na cesárea, antes da rotura das membranas ou por amniocentese), sangue do RN (sangue de cordão necessita de confirmação com amostra de sangue periférico ou outra amostra), secreção respiratória baixa, obtida por broncoscopia ou lavado broncoalveolar, aspirado brônquico ou traqueal ou líquor;

** Amostra não estéril: amostra positiva de secreção respiratória alta (exemplo: swab nasofaríngeo) ou outras amostras não estéreis (exemplo: fezes).

4 MATERIAL E MÉTODOS

4 MATERIAL E MÉTODOS

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo realizado no período de 12 de abril de 2020 a 30 de setembro de 2020 no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HC-FMUSP) e no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU-USP). A avaliação da transmissão vertical está relacionada a uma coorte principal denominada “Estudo exploratório da COVID-19 na gestação”, que ainda está em andamento e contempla diversos outros aspectos relacionados à COVID-19 em gestantes.

Quando a pandemia de COVID-19 se iniciou em São Paulo, nossa instituição organizou o Instituto Central do HC-FMUSP para o atendimento exclusivo de pacientes com diagnóstico ou suspeita de COVID-19, enquanto o HU-USP tornou-se a referência para atendimento pré-natal e de urgência das demais gestantes em acompanhamento na nossa instituição. Todas as pacientes que apresentaram sintomas durante a gestação e que tiveram confirmação diagnóstica para COVID-19 foram convidadas a participar do estudo da transmissão vertical que incluía a coleta de material biológico no momento do parto tanto de pacientes com doença ativa (HC-FMUSP) quanto aquelas já curadas (HU-USP).

O projeto de pesquisa e o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) deste estudo foram aprovados pelo Comitê de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) do HCFMUSP em 12 de abril de 2020 (CAAE: 30270820.3.0000.0068 - Anexo A) e foi registrado no ClinicalTrial.gov (NCT04647994). Após a explicação dos objetivos da presente investigação, foi solicitada a anuência formal às pacientes pela assinatura do TCLE (Anexo B). Nos casos de pacientes com quadro clínico grave e indicação do parto próxima à internação, o TCLE foi assinado retroativamente após melhora clínica ou por algum responsável legal, no caso de pacientes que evoluíram a óbito.

4.1 Seleção de pacientes

4.1.1 Critérios de inclusão

Para a presente investigação, foram incluídas gestantes que contemplavam os seguintes critérios:

- Gestação única;
- Feto vivo;

- Sintomas relacionados à COVID-19 durante a gestação;
- Diagnóstico confirmado de COVID-19 durante a gestação (RT-PCR de vias aéreas ou sorologia).

4.1.2 Critérios de exclusão

Foram excluídas as pacientes que apresentaram algum dos critérios abaixo:

- Diagnóstico de abortamento ou óbito fetal;
- Impossibilidade de coleta do sangue materno no parto para investigação de SARS-CoV-2 por RT-PCR;
- Impossibilidade de coleta de amostras biológicas para investigação de SARS-CoV-2 por RT-PCR (LA; sangue de cordão umbilical; colostro e/ou swab RN);
- Parto em serviço externo fora do completo HC-FMUSP e HU-USP.

4.2 Pacientes com COVID-19 ativa (HC-FMUSP)

Todas as pacientes com sintomas respiratórios sugestivos de COVID-19, contactantes de casos confirmados ou com o diagnóstico de COVID-19 foram encaminhadas para atendimento no HC-FMUSP.

A investigação da infecção pelo SARS-CoV-2 nas pacientes em estudo foi feita por meio de RT-PCR em amostras do trato respiratório (nasofaringe/orofaringe ou traqueia no caso das pacientes intubadas), obtidos a partir do terceiro dia de sintomas. Nas pacientes com sintomas sugestivos de COVID-19 e resultado negativo, foi realizada avaliação adicional por meio da repetição do RT-PCR em 48-72 horas ou sorologia materna (IgM/IgG) nos casos tardios (após o oitavo dia de sintomas). Ainda que o RT-PCR de vias aéreas seja considerado o padrão-ouro para definição diagnóstica da infecção pelo SARS-CoV-2,⁸⁰ sabe-se que é um método de sensibilidade variável de acordo com a janela de tempo e o espécime avaliado.⁵² Ainda, após a primeira semana de doença, a produção de anticorpos aumenta sobremaneira, de modo que, no 15º dia de sintomas, observa-se a presença de anticorpos totais (IgM/IgG) em 100% dos casos, 94,3% de IgM e 79,8% de IgG.⁸¹ Dessa forma, dada a elevada suspeição diagnóstica e as características laboratoriais acima descritas, a positividade em qualquer exame foi considerada confirmatória para a COVID-19.

Foram considerados sintomas de COVID-19 a presença de febre, calafrios, tosse, dispneia, fadiga, mialgia, odinofagia, cefaleia, congestão ou coriza, anosmia, disgeusia, anorexia, náusea/vômitos e diarreia.

Dentre os critérios de internação, foram consideradas elegíveis as pacientes com diagnóstico de COVID-19 que necessitaram de suporte clínico ou obstétrico, como assistência ao parto ou outras urgências, como doenças hipertensivas, amniorrexe prematura, sofrimento fetal, entre outras. Foram classificadas como graves as pacientes com COVID-19 que necessitaram de suplementação com oxigênio (dispneia, taquipneia ≥ 24 incursões por minuto ou saturação de oxigênio $< 95\%$) ou que necessitaram de cuidados em UTI. A indicação do parto e a via do nascimento foram individualizadas considerando as condições clínicas maternas e fetais. À luz do conhecimento vigente no momento do estudo, a fim de evitar contaminação do neonato com as secreções maternas, não foi permitida a realização de contato pele a pele, amamentação em sala de parto, e clampeamento tardio do cordão nas pacientes cujo parto foi realizado no HC-FMUSP. Além disso, durante toda a internação, os RNs foram mantidos em isolamento até o momento da alta, sendo alimentados por fórmula láctea nesse período.

Para todos os neonatos nascidos no HC-FMUSP, foi realizada a pesquisa de infecção pelo SARS-CoV-2 por meio de swab de orofaringe e/ou traqueia (RN intubados) ou duas amostras de orofaringe após 48 horas de vida. Nos casos de positividade em algum dos testes, uma nova amostra foi realizada com 72 horas de vida para excluir resultados falso-positivos.

4.3 Pacientes que tiveram COVID-19 na gestação e que estavam curadas no momento do parto (HU-USP)

Foram acompanhadas no HU-USP todas as gestantes sem diagnóstico ou suspeita clínica de COVID-19. Da mesma forma, todas as pacientes que tiveram COVID-19 durante a gestação e estavam assintomáticas também foram encaminhadas para seguimento pré-natal e parto no HU-USP após o período de isolamento (10 a 28 dias do início dos sintomas a depender do quadro clínico materno).

O diagnóstico de COVID-19 foi realizado no momento da suspeita clínica, por meio da realização de RT-PCR do trato respiratório conforme técnica descrita na seção anterior, ou de sorologia, nos casos tardios. Para as demais pacientes sem diagnóstico de COVID-19 confirmado durante a gestação, foi realizado um inquérito sobre a presença de sintomas característicos durante o período gestacional, e, nos casos suspeitos, foi realizada a sorologia (IgM e IgG) no momento do parto.

Para todos os casos, a indicação e a via de parto foram obstétricas. Os RNs provenientes do HU-USP não foram testados para SARS-CoV-2, pois as pacientes não se encontravam sintomáticas ou com doença ativa no momento do parto, e os cuidados habituais foram adotados, com liberação de alojamento conjunto e amamentação.

4.4 Coleta de dados

4.4.1 Dados clínicos

Os dados clínicos, demográficos e obstétricos, bem como os resultados dos exames durante a internação, foram armazenados em um banco de dados REDCAP criado exclusivamente para essa finalidade.

4.4.2 Coleta das amostras biológicas

Foram coletadas as seguintes amostras biológicas: sangue materno, sangue de cordão umbilical, LA, colostro e swab de vias aéreas dos RN.

O sangue materno foi coletado por meio da punção venosa realizada imediatamente antes do início do parto e da instalação de medicamentos e soro. O LA (5 a 10 ml) foi obtido com a aspiração utilizando agulha e seringa de 20 ml, antes da rotura da bolsa. O sangue de cordão umbilical (5 a 10 ml) foi obtido pela punção com agulha da artéria ou veia do cordão umbilical, logo após o clampeamento do cordão umbilical.

Após 48-72 horas do parto, foi coletado 5-10 ml de colostro por meio de ordenha manual, após adequada desinfecção das mamas com algodão ou gaze embebida em solução alcoólica. Todas as amostras coletadas foram congeladas a -80°C até o momento da análise.

4.4.3 Avaliação laboratorial

4.4.3.1 Diagnóstico molecular de SARS-CoV-2

Foi realizada a extração do ácido nucleico de 140 μL das amostras clínicas utilizando o kit QIAmp Viral RNA (Qiagen, Alemanha), eluído em 60 μL e armazenado a -80 graus Celsius até o processamento. A detecção do RNA viral foi realizada por meio de um RT-PCR qualitativo – kit RealStar® SARS-CoV-2 Virus RT-PCR 1.0 RUO (*Altona Diagnostic*,

Alemanha) – de acordo com as instruções do fabricante. A reação tem como alvos o gene E do β -coronavírus e o gene SARS-CoV-2 S. O ensaio foi realizado utilizando um LightCycler® 96 Instrument (Roche, Alemanha).

As amostras foram consideradas positivas quando o valor do limite do ciclo (Ct) foi ≤ 40 para, pelo menos, um dos alvos. O ensaio foi avaliado com validação independente por Visseaux e cols.,⁸² apresentando sensibilidade e especificidade comparáveis aos protocolos atualmente recomendados pela OMS.

4.4.3.2 Sorologia

A avaliação sorológica foi realizada com o teste Wondfo One Step COVID-19 (*Guangzhou Wondfo Biotech*, China). O teste foi realizado com 10 μ L de soro pipetado na cavidade de amostra do dispositivo de teste, e 80 μ L adicionado à cavidade abaixo da amostra, sendo a mudança de cor então comparada com o ensaio padrão. O resultado foi avaliado em 15 minutos por três profissionais experientes no método. A sensibilidade geral do teste sorológico é de 85,8% (IC 95% 77,7 - 91,9%), chegando a 94,9% (85,9 - 98,9%) para casos realizados após 14 dias do início dos sintomas.

4.4.3.3 Cultura viral

Para a cultura viral, utilizamos as Células Vero (ATCC® CCL-81™) conforme a técnica previamente descrita.⁸³⁻⁸⁵ Foi realizado o cultivo em meio essencial mínimo Dulbecco suplementado com soro fetal bovino inativado por calor (10%) e antibióticos/antimicóticos (Cultilab, Campinas, São Paulo, www.cultilab.com.br).

Para o isolamento do vírus, as amostras foram inoculadas em meio de cultura Vero Cells em frascos plásticos (jato de biofilme, área de 12,5 cm², capacidade de 25 mL) imediatamente após o processamento. As culturas inoculadas foram cultivadas em uma incubadora a 37 graus Celsius em uma atmosfera de 5% de CO₂. As culturas de células foram mantidas por, pelo menos, duas semanas e observadas diariamente para evidência do efeito citopático.

Pelo menos, duas subculturas foram realizadas semanalmente. A detecção presuntiva de vírus em sobrenadantes mostrando efeito citopático foi investigada usando um microscópio invertido (Nikon, Japão) e confirmada por RT-PCR específico conforme descrito acima.

4.5 Análise estatística

O tamanho da amostra foi obtido por conveniência. A análise descritiva das variáveis quantitativas foi realizada pelo cálculo de médias, medianas e desvio padrão (DP). Para as variáveis categóricas, foram calculadas as frequências absolutas e porcentagens.

A comparação entre os grupos foi realizada utilizando-se o teste exato de Fisher para amostras não pareadas com distribuição normal; para a comparação dos dados de distribuição não paramétricos, utilizou-se o teste não paramétrico de Mann Whitney U.

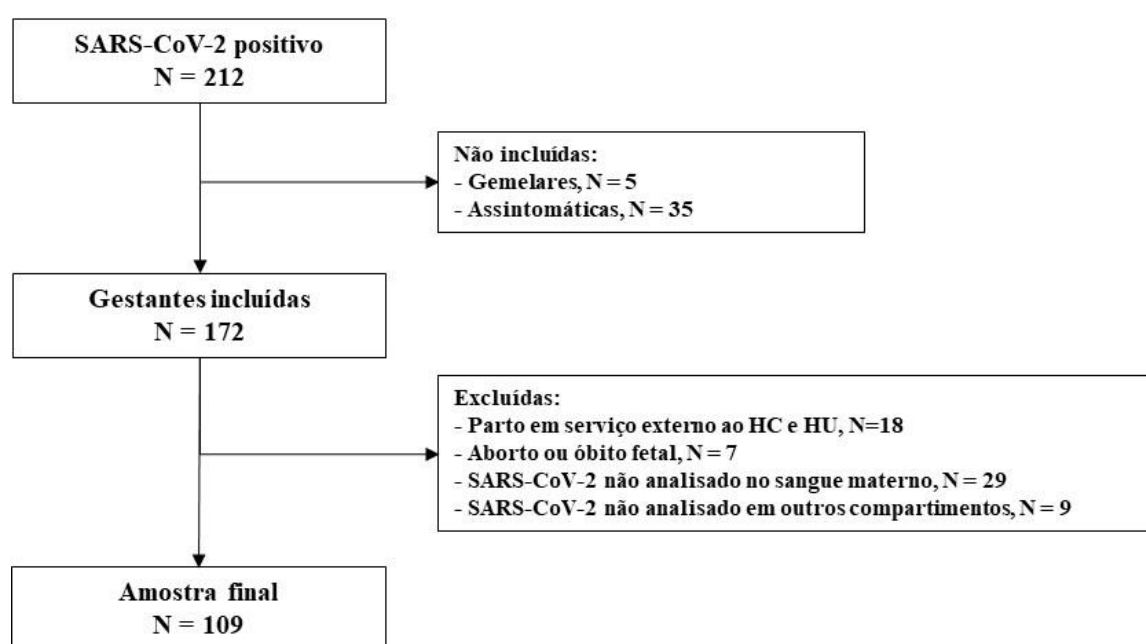
As diferenças foram consideradas significativas quando o valor de p foi inferior a 0,05. Os dados foram analisados por meio do *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS versão 20 IBM, Armonk, NY, EUA).

5 RESULTADOS

5 RESULTADOS

No período do estudo, 212 gestantes foram atendidas no nosso serviço com diagnóstico de COVID-19. Desse grupo inicial, 40 pacientes não foram incluídas na casuística, pois eram gestações gemelares (N=5) ou não apresentaram sintomas relacionados à COVID-19 (N=35). Outras 63 pacientes foram excluídas da casuística de acordo com os critérios de exclusão previamente descritos na seção *Métodos*, totalizando 109 pacientes (Figura 1).

Figura 1 - Fluxograma da população em estudo – HCFMUSP 2020



Fonte: De autoria própria.

Do total de pacientes avaliadas, 56 foram provenientes do HC-FMUSP e 53 do HU-USP. Dos 56 casos nascidos no HC-FMUSP, dois RNs não realizaram RT-PCR para SARS-CoV-2, totalizando 54 RNs avaliados após o nascimento.

A mediana do intervalo entre o início dos sintomas da COVID-19 e o parto foi de 23 dias (2-242). Uma das pacientes incluídas não foi capaz de definir a data de início dos sintomas sendo, portanto, excluída das análises que contemplavam essa variável (idade gestacional de início de sintomas e intervalo entre os sintomas e o parto). A maioria das pacientes foi internada por motivos clínicos e obstétricos relacionados à COVID-19 (80/109; 73,4%), sendo que 36,7% dos casos foram classificados como graves (40/109). Dentre as pacientes classificadas como grave, 38 necessitaram de suplementação com oxigênio durante a internação (34,9%) e 25 foram internadas em UTI (22,9%). Quatro pacientes incluídas no estudo foram a óbito por

complicações relacionadas à COVID-19, correspondendo a 3,7% de letalidade nesse grupo. Os dados clínicos e demográficos estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Caracterização da população em estudo - dados clínicos e demográficos maternos (N=109) – HCFMUSP 2020

Características da população	N= 109
	n (%), média (DP), mediana (mínimo-máximo)
DADOS CLÍNICOS MATERNOS	
Idade materna, anos	29,5 (7,3)
Índice de massa corpórea (n= 107)	30,5 (18,7- 48,3)
Tabagismo	10 (9,2)
COMORBIDADES	
Hipertensão arterial	14 (12,8)
Diabetes mellitus pré-gestacional	4 (3,7)
Outras†	31 (28,4)
INTERCORRÊNCIAS OBSTÉTRICAS	
Nuliparidade	35 (32,1)
Pré-eclâmpsia	10 (9,2)
Diabetes gestacional	21 (19,3)
PARÂMETROS CLÍNICOS ASSOCIADOS À COVID-19	
Idade gestacional do início dos sintomas, semanas (N= 108)	31,2 (5-40,6)
Intervalo entre início dos sintomas e o parto, dias (N= 108)	23,5 (2-242)
Internação hospitalar	80 (73,4)
Tempo de internação hospitalar, dias (N= 80)	7 (3-187)
Oxigenioterapia	38 (34,9)
UTI	25 (22,9)
COVID-19 grave‡	40 (36,7)
Óbito materno	4 (3,7)

†Outras: cardiopatias, pneumopatias, disfunções tireoidianas, anemia, distúrbios neurológicos.

‡COVID-19 grave: necessidade de suplementação com oxigênio e/ou internação em unidade de terapia intensiva; DP: desvio padrão; UTI: unidade de terapia intensiva.

A mediana da idade gestacional de parto foi de 37,9 semanas, sendo que 36,7% dos partos foram prematuros (40/109). Uma parcela significativa dos RNs (31,2%) foi encaminhada para UTI neonatal após o nascimento, sendo que 9,2% dos casos necessitaram de ventilação mecânica. Não houve nenhum caso de óbito dentre os RNs acompanhados. Os dados relacionados ao parto e aos RNs encontram-se discriminados na Tabela 4.

Tabela 4 - Caracterização da população em estudo – dados obstétricos e neonatais (N=109) – HCFMUSP 2020

Características da população	N= 109
	n (%), média (DP), mediana (mínimo-máximo)
PARÂMETROS DO PARTO	
Idade gestacional de nascimento, semanas	37,9 (27,1-41,1)
Parto cesáreo	79 (72,5)
Tempo de internação após o parto, dias	3 (2-86)
PARÂMETROS NEONATAIS	
Peso de nascimento, gramas	3040 (680-4215)
Apgar de 5º minuto <7	10 (9,2)
UTI neonatal	34 (31,2)
Ventilação mecânica	10 (9,2)
Tempo de hospitalização, dias	4 (2-190)
Óbito neonatal	0

DP: desvio padrão; UTI: unidade de terapia intensiva

Todos os compartimentos estudados apresentaram resultados positivos de RT-PCR para SARS-CoV-2, sugerindo a possibilidade de transmissão vertical. A taxa de positividade nas amostras biológicas foi de 14,7% (16/109) no sangue materno, 13,9% (6/43) no LA, 6,7% (7/105) no sangue de cordão umbilical e 2,1% (2/97) no colostro. Em todos os casos, tentamos minimizar a contaminação das amostras com fluidos maternos, a partir das técnicas previamente descritas na seção *Métodos*. No entanto, a coleta do LA seguindo tais preceitos foi desafiadora, principalmente nas pacientes de maior gravidade, refletindo um número reduzido de amostras de LA.

A Tabela 5 apresenta as distribuições de todas as pacientes do estudo de acordo com a positividade para SARS-CoV-2 nos compartimentos investigados.

Tabela 5 - Resultados do RT-PCR para SARS-CoV-2 nas amostras coletadas no parto e após o nascimento (sangue materno, líquido amniótico, sangue de cordão umbilical, colostro e swab dos recém-nascidos; N=109) – HCFMUSP 2020

Número de casos	Sangue materno	Sangue de cordão	Líquido amniótico	Colostro	Swab do RN
1	+	+	+	-	+
1	-	+	-	+	+
2	+	+	NA	-	-
2	-	+	NA	-	-
1	-	+	+	-	NA
1	+	-	+	-	-
1	+	-	+	NA	-
2	+	NA	1 (+),1(-)	-	-
1	-	-	+	-	NA
1	-	-	NA	+	-
5	+	-	NA	-	3 (-), 2 (NA)
2	+	-	NA	NA	1 (-), 1 (NA)
2	+	-	-	-	-
39	-	-	9 (-), 30 (NA)	-	NA
34	-	-	16 (-), 18 (NA)	-	-
5	-	-	-	NA	NA
2	-	-	-	NA	-
2	-	-	NA	NA	NA
2	-	-	NA	NA	NA
1	-	-	NA	NA	-
1	-	NA	-	-	-
1	-	NA	NA	-	NA

RN= recém-nascido; NA= Não avaliado; + resultado positivo; - resultado negativo.

A Tabela 6 sintetiza todos os casos com, pelo menos, uma amostra biológica positiva, de acordo com o quadro clínico materno, idade de início de sintomas, idade gestacional do parto, e resultado das amostras em cada compartimento.

Tabela 6 - Detalhes dos casos com resultados positivos para SARS-CoV-2 nas amostras em estudo (N=109) – HCFMUSP 2020

Caso	COVID-19	IG_S	IG_P	Sangue Materno	Sangue de cordão	Líquido amniótico	Colostro	Swab RN
1	Grave	32,86	33,57	+	+	+	-	+
2	Leve/Mod	38,14	38,57	-	+	-	+	+
3	Leve/Mod	38,43	39,43	-	+	NA	-	-
4	Leve/Mod	29	38,43	-	+	+	-	NA
5	Leve/Mod	30,14	33,71	+	+	NA	-	-
6	Grave	25,57	39,14	-	+	NA	-	NA
7	Grave	38,28	39,14	+	+	NA	-	-
8	Grave	34	35,14	+	-	+	-	-
9	Grave	30,14	39,86	-	-	+	-	NA
10	Leve/Mod	37,71	38	+	-	+	NA	-
11	Leve/Mod	39,28	40	+	NA	+	-	-
12	Grave	31,43	33	-	-	NA	+	-
13	Grave	30,71	31,71	+	-	-	-	-
14	Leve/Mod	38,86	40,28	+	-	-	-	-
15	Grave	33,86	35,43	+	NA	-	-	-
16	Leve/Mod	39,28	39,85	+	-	NA	-	-
17	Leve/Mod	33,57	35,43	+	-	NA	-	-
18	Grave	31,86	32,71	+	-	NA	-	-
19	Grave	37,57	37,86	+	-	NA	NA	-
20	Leve/Mod	28,86	37,71	+	-	NA	NA	NA
21	Leve/Mod	28	39,86	+	-	NA	-	NA
22	Leve/Mod	34,28	36,71	+	-	NA	-	NA

IG_S: idade gestacional do início dos sintomas – semanas; IG_P: idade gestacional do parto – semanas; Leve/Mod: leve/moderado; NA= não avaliado; + resultado positivo; - resultado negativo.

A fim de identificar o potencial de replicação do SARS-CoV-2 no colostro materno e potencial de infecção por essa via, foi realizada a cultura viral das duas amostras com RT-PCR positivo; ambas foram negativas.

Todas as gestantes com resultados positivos de RT-PCR para SARS-CoV-2 no sangue materno no momento do parto apresentaram sintomas de COVID-19 no terceiro trimestre ($p = 0,007$; Tabela 7). Além disso, um menor intervalo entre a doença e o parto (7,5 *versus* 29 dias, $p = 0,002$) foi um fator de risco para positividade no sangue materno no momento do parto. Este resultado também foi observado ao considerar os intervalos ≤ 10 ou > 10 dias ($p = 0,006$; Tabela 7). Não foi observada influência de outros fatores maternos e obstétricos na viremia materna no momento do parto (Tabela 7).

Tabela 7 - Associação entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a presença de SARS-CoV-2 no sangue materno no momento do parto (N= 109) – HCFMUSP 2020

Parâmetros	Sangue Materno		P
	RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 (N= 16)	RT-PCR negativo para SARS-CoV-2 (N= 93)	
Trimestre gestacional do início de sintomas (N=108)			
Primeiro	0 (0)	3 (3,3)	
Segundo	0 (0)	31(33,7)	0,007*
Terceiro	16 (100)	58 (63)	
Internação hospitalar pela COVID-19	14 (87,5)	66 (71)	0,23*
COVID-19 grave†	7 (43,8)	33 (35,5)	0,58*
Intervalo de tempo entre os sintomas de COVID-19 e o parto, dias (N=108)	7,5 (2-83)	29 (2-242)	0,002**
Intervalo de tempo entre os sintomas de COVID-19 e o parto (N=108)			
≤ 10 dias	10 (62,5)	23 (25)	
> 10 dias	6 (37,5)	69 (75)	0,006*
IMC (N=107)	29,7 (20,9-43,7)	30,5 (18,7-48,3)	0,56**
Comorbidades			
Hipertensão arterial	0 (0)	14 (15,1)	0,22*
Diabetes pré-gestacional	2 (12,5)	2 (2,2)	0,10*
Outras‡	5 (31,3)	26 (28)	0,77*
Complicações obstétricas			
Pré-eclâmpsia	0 (0)	10 (10,8)	0,35*
Diabetes Gestacional	4 (25)	17 (18,3)	0,51*
Parto cesáreo	13 (81,3)	66 (71)	0,55*
Idade gestacional de nascimento, semanas	37,2 (31,7-40,3)	38,3 (27,1-41,1)	0,38**

Dados apresentados como número (porcentagem) e mediana (mínimo-máximo)

† COVID-19 grave: necessidade de suplementação com oxigênio e/ou internação em unidade de terapia intensiva

‡Outras: cardiopatias, pneumopatias, disfunções tireoidianas, anemia, distúrbios neurológicos. IMC: índice de massa corpórea

*Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Foram avaliadas as associações entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a positividade para SARS-CoV-2 no LA e/ou sangue de cordão umbilical no momento do parto. O intervalo mais curto entre o início dos sintomas de COVID-19 e o parto foi associado à positividade para SARS-CoV-2 no LA e/ou sangue de cordão umbilical no momento do parto (7 *versus* 27 dias, $p = 0,049$). Quando estratificado por intervalos ≤ 10 ou > 10 dias, essa associação também foi positiva ($p = 0,032$). Além disso, a positividade para SARS-CoV-2 no soro materno no momento do parto foi associada à positividade para SARS-CoV-2 no LA e/ou sangue de cordão umbilical (54,5% *versus* 10,2%; $p = 0,001$ - Tabela 8).

Tabela 8 - Associação entre os parâmetros clínicos e obstétricos, e a presença de SARS-CoV-2 nos compartimentos estudados no momento do parto – líquido amniótico e sangue de cordão umbilical (N= 109) – HCFMUSP 2020

Parâmetros	Compartimentos		P
	RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 (N= 11)	RT-PCR negativo para SARS-CoV-2 (N= 98)	
Idade gestacional de início dos sintomas, por trimestre (n=108)			
Primeiro	0 (0)	3(3,1)	0,33*
Segundo	1(9,1)	30 (30,9)	
Terceiro	10 (90,9)	64 (66)	
Internação hospitalar pela COVID-19	10 (90,9)	70 (71,4)	0,28*
COVID-19 grave†	5 (45,5)	35 (35,7)	0,53*
Intervalo entre os sintomas de COVID-19 e o parto, dias (N=108)	7 (2-95)	27 (2-242)	0,049**
Intervalo entre os sintomas de COVID-19 e o parto (N=108)			
≤ 10 dias	7 (63,6)	26 (26,8)	0,032*
> 10 dias	4 (36,4)	71 (73,2)	
RT-PCR positivo no sangue materno	6 (54,5)	10 (10,2)	0,001*
Parto cesáreo	9 (81,8)	70 (71,4)	0,72*
Idade gestacional de nascimento, semanas	38,6 (33,6-40)	37,8 (27,1-41,1)	0,72**
IMC (N=107)	29,4 (23,1-46,2)	30,6 (18,7-48,3)	0,47**
Comorbidades			
Hipertensão arterial	0 (0)	14 (14,3)	0,35*
Diabetes pré-gestacional	1 (9,1)	3 (3,1)	0,35*
Outras‡	3 (27,3)	28 (28,6)	1,00*
Complicações obstétricas			
Pré-eclâmpsia	1 (9,1)	9 (9,2)	1,00*
Diabetes Gestacional	1 (9,1)	20 (20,4)	0,69*

Dados apresentados como número (porcentagem) e mediana (mínimo-máximo)

† COVID-19 grave: necessidade de suplementação com oxigênio e/ou internação em unidade de terapia intensiva

‡Outras: cardiopatias, pneumopatias, disfunções tireoidianas, anemia, distúrbios neurológicos. LA: líquido amniótico; IMC: índice de massa corpórea

*Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

Com o objetivo de investigar se a positividade nos compartimentos (LA e cordão umbilical) apresentaria alguma influência nos resultados neonatais, analisamos a associação entre a positividade para SARS-CoV-2 no LA e/ou sangue de cordão umbilical e o desfecho clínico dos 54 RNs testados para SARS-CoV-2 (Tabela 9). Não houve associação entre os parâmetros avaliados e a positividade nos compartimentos estudados.

Tabela 9 - Associação entre parâmetros neonatais e a positividade para SARS-CoV-2 nos compartimentos (líquido amniótico e/ou sangue de cordão umbilical), nos casos testados após o nascimento (N=54) – HCFMUSP 2020

Parâmetros neonatais	Compartimentos		P
	RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 (N= 8)	RT-PCR negativo para SARS-CoV-2 (N= 46)	
Idade gestacional no parto, semanas	38,3 (33,6-40)	35,6 (27,1-41,1)	0,20**
Sexo			
Feminino	3 (37,5)	22 (47,8)	0,71*
Masculino	5 (62,5)	24 (52,2)	
Peso de Nascimento, gramas	3080 (1732-3490)	2490 (680-3870)	0,22**
Escore de Apgar no 5º minuto de vida < 7	1 (12,5)	8 (17,4)	1,00*
UTI neonatal	2 (25)	26 (56,5)	0,13*
Tempo de internação, dias	5,5 (2-29)	6 (2-190)	0,39**
Ventilação mecânica	0 (0)	10 (21,7)	0,33*

Dados apresentados como número (porcentagem) e mediana (mínimo-máximo);

UTI: unidade de terapia intensiva;

* Teste exato de Fisher; ** Teste de Mann-Whitney.

5.1 Descrição dos casos com suspeita de transmissão vertical

Dois RNs (3,7%; 2/54) apresentaram resultados positivos de RT-PCR para SARS-CoV-2 em orofaringe, sugerindo possível transmissão vertical. Estes dois casos representam 25% (2/8) das amostras de LA ou cordão umbilical positivas para SARS-CoV-2, dentre os casos em que o RN foi investigado (N = 54). Nos dois casos com suspeita de transmissão vertical, o SARS-CoV-2 foi identificado em outros compartimentos; no primeiro caso, obtivemos RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 no sangue materno, LA e sangue de cordão umbilical, e, no segundo caso, as amostras de sangue de cordão e colostro foram positivas para SARS-CoV-2 (Tabela 6, casos 1 e 2).

Os dois RNs com suspeita de transmissão vertical nasceram no HC e a descrição dos casos será detalhada a seguir. O primeiro caso positivo (caso 1, Tabela 6) foi de um RN do sexo

feminino, nascido de parto cesáreo com 33 semanas e 4 dias. A gestante internou por um quadro grave de COVID-19, necessitando de cuidados intensivos e suporte ventilatório, tendo o parto sido indicado no sexto dia de sintomas devido à deterioração clínica materna. O RN nasceu em boas condições, peso de nascimento de 2130 gramas, adequado para idade gestacional, e o Apgar de quinto minuto foi nove. A pesquisa de SARS-CoV-2 no RN foi realizada com 48 horas de vida, com resultado positivo, o que indicou uma segunda coleta com 72 horas de vida, que confirmou a positividade do teste. O RT-PCR para SARS-CoV-2 também foi avaliado no 17º dia de vida, mantendo-se ainda positivo, e tornando-se negativo no 22º dia após o parto. A sorologia realizada no 23º dia de vida mostrou positividade para IgG.

No terceiro dia de vida, o neonato apresentou diminuição da saturação de oxigênio com necessidade de oxigenioterapia até o 14º dia de vida. Foram realizados exames de imagem para avaliação pulmonar, com radiografia de tórax normal no quinto dia de vida; no entanto, a ultrassonografia pulmonar revelou a presença de linhas B coalescentes e consolidações subpleurais na base do pulmão esquerdo. Além disso, a tomografia computadorizada de tórax evidenciou opacidades e atelectasias em lobo superior direito, e atenuação discreta e difusa do parênquima pulmonar. Não houve nenhuma alteração laboratorial significativa durante a internação. Com 22 dias, o lactente apresentou quadro de enterorragia, necessitando de transfusão sanguínea. Todos os quadros clínicos foram autolimitados, e o RN recebeu alta hospitalar no 26º dia de vida em bom estado geral. Durante todo o período de internação, não houve contato com a mãe ou outros familiares, e o aleitamento foi realizado exclusivamente por fórmula.

O segundo caso (caso 2, Tabela 4) foi de um RN do sexo masculino, nascido a termo. A paciente estava com 38 semanas e 4 dias na ocasião, apresentava-se no quarto dia de sintomas de COVID-19 (quadro clínico leve), e teve um parto normal espontâneo, com rotura das membranas duas horas antes do nascimento. O índice de Apgar no quinto minuto foi nove e o peso de nascimento foi de 2980 gramas. Os resultados do RT-PCR para SARS-CoV-2 coletados no segundo dia de vida e confirmado com 72 horas de vida foram positivos. No terceiro dia, o neonato apresentou bradicardia sinusal assintomática associada à hipocalcemia. Após três dias de infusão de cálcio enteral, a frequência cardíaca e os níveis séricos de cálcio foram normalizados. No sétimo dia de vida, antes da alta hospitalar, o swab foi repetido e o resultado foi negativo. Durante a internação, não houve alterações nos exames laboratoriais e nos exames de imagem. O RN foi alimentado com fórmula até a alta hospitalar, que ocorreu no oitavo dia de vida.

6 DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo prospectivo realizado em centro único com gestantes não vacinadas com COVID-19 sugerem que: (i) a transmissão vertical do SARS-CoV-2 é possível; (ii) o SARS-CoV-2 pode ser identificado em todos os compartimentos biológicos que expõem o feto e/ou RN ao vírus (sangue materno, LA, sangue de cordão umbilical e colostro); (iii) a viremia materna no momento do parto, definida como RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 no sangue materno, está associada à positividade no LA e/ou sangue de cordão umbilical; (iv) a positividade para o SARS-CoV-2 no sangue materno e nos compartimentos (LA e/ou sangue de cordão) está inversamente associada ao tempo de infecção materna.

A possibilidade de transmissão vertical do SARS-CoV-2 durante a gravidez já foi aventada previamente.^{12-15,25-27,30} No entanto, até o momento, poucos estudos^{25,26,30} foram capazes de comprovar a transmissão transplacentária do SARS-CoV-2 por meio da análise de amostras de LA, sangue de cordão e/ou placenta, e a taxa de transmissão vertical, bem como, os possíveis fatores de risco associados a esse desfecho ainda não estão bem definidos. Dessa forma, acreditamos que este estudo contribui de forma relevante para o conhecimento da transmissão vertical em gestantes com COVID-19.

Em nosso estudo, 3,7% dos RNs oriundos de pacientes com COVID-19 na gestação apresentaram swab de orofaringe positivo para SARS-CoV-2. Esse resultado é semelhante ao descrito em metanálise publicada por Kotlyar e cols.²⁸ com 936 RNs (3,2%), porém, comparativamente a esse estudo, observamos maiores taxas de positividade para SARS-CoV-2 no LA (13,9% *versus* 0%) e no sangue de cordão umbilical (6,7% *versus* 2,9%).

Outros estudos^{22,24,86,87} observaram taxas menores de transmissão vertical. Sinaci e cols.⁷⁶ em estudo prospectivo com 63 gestantes com COVID-19 leve a moderada identificaram apenas um RN com PCR positivo em orofaringe após o nascimento, sendo que todas as amostras biológicas relacionadas a esse paciente foram negativas. Outros dois RN apresentaram IgM e IgG positivos para SARS-CoV-2 24 horas após o parto, porém, sem confirmação com teste molecular. Das 52 amostras biológicas realizadas pelos autores, apenas uma amostra da placenta (1,9%) e duas de secreção vaginal (3,8%) foram positivas para SARS-CoV-2. Todas as amostras de LA e sangue de cordão foram negativas. Em outras publicações,^{16,27,88,89} nenhum caso de transmissão vertical foi descrito.

A discrepância entre os nossos resultados e as demais publicações pode estar relacionada às características do nosso grupo de pacientes. Todas as gestantes incluídas apresentaram sintomas respiratórios associados à COVID-19, com parcela significativa de casos classificados como graves, incluindo quatro casos de óbito materno. Nosso estudo contemplou ainda taxas mais elevadas de viremia materna, fato que também corrobora com a severidade da nossa coorte. Considerando que a viremia materna e a resposta inflamatória secundária à infecção viral estão intimamente relacionadas à transmissão placentária, é esperado que nosso grupo contemple taxas mais elevadas de transmissão vertical do que os estudos realizados com pacientes assintomáticas ou oligo sintomáticas.

Ainda, é possível que, devido às limitações associadas ao método diagnóstico, uma parcela significativa dos RNs não tenha sido adequadamente diagnosticada após o nascimento e, possivelmente, nossa taxa de transmissão vertical seja ainda mais elevada. Sabe-se que a sensibilidade do RT-PCR varia de acordo com o tempo da doença e o material investigado.⁵¹ Reconhecemos que a coleta seriada de amostras dos RNs associada a uma avaliação mais ampla contemplando múltiplos sítios biológicos como urina, fezes e sangue do RN poderia aumentar a sensibilidade da detecção viral. Essa análise poderia ser útil principalmente nos casos com resultados positivos no LA e no sangue de cordão. Infelizmente, por tratar-se de doença emergente e pela escassez dos recursos materiais no momento em que este estudo foi realizado, apesar da coleta ter sido prospectiva, a análise das amostras foi realizada após a coleta de todos os casos, não sendo possível selecionar os casos em que essa estratégia deveria ser aplicada.

Importante ressaltar que a opção de realizarmos a avaliação pós-natal apenas dos casos nascidos no HC foi um fator limitante no nosso estudo. Apesar de termos uma casuística grande proveniente de um único centro, em metade dos casos, não pudemos definir a transmissão vertical pela ausência da comprovação viral no RN. Dessa forma, seria adequado considerar que outros estudos com casuística mais robusta poderiam ter achados diferentes dos nossos, tanto no que se refere à taxa de transmissão vertical do SARS-CoV-2 quanto na correlação com outros parâmetros clínicos e neonatais. Ainda assim, trata-se de uma das casuísticas com maior número de casos publicados até o momento, com avaliação de diversos espécimes biológicos que comprovam a transmissão vertical.

É importante ressaltar que nosso estudo foi realizado em período anterior ao início da implementação de vacinas contra a COVID-19 no Brasil. Dessa forma, os achados acima descritos refletem a história natural da doença, que é sabidamente diferente da observada nas gestantes imunizadas. Sabe-se que as gestantes vacinadas apresentam comportamento divergente em relação ao quadro clínico⁹⁰, e à produção e passagem transplacentária de

anticorpos (IgG).⁹¹ Em estudo coorte prospectivo, Shook e cols.⁹¹ observaram que as gestantes vacinadas apresentam títulos de anticorpos mais elevados no momento do parto tanto no sangue materno (OR 2,03; $p < 0,001$) quanto no sangue de cordão umbilical (OR 2,13; $p < 0,01$) em relação ao grupo de pacientes infectadas durante a gestação. Dessa forma, não podemos esperar que os nossos resultados possam ser replicados no cenário atual, no qual grande percentual das gestantes já se encontra imunizada.

Da mesma forma, a escassez de estudos com maior nível de evidência e a falta de uma definição padronizada da transmissão vertical do SARS-CoV-2 dificultam a comparação entre os resultados já publicados. No presente estudo, foram utilizados os critérios da OMS⁷⁸ para classificar a transmissão vertical, que considera como infecção congênita confirmada apenas os casos com exposição intrauterina e persistência viral identificada em amostra estéril após 24-48 horas do nascimento. Por esse critério, em nosso estudo, 3,7% dos casos foram classificados como *possível* transmissão vertical, dado que nenhuma amostra estéril foi realizada nos RNs.

Pela classificação de Shah e cols.,⁷⁷ nossa taxa de transmissão vertical seria mais elevada, no entanto, preferimos ser mais cautelosos diante de resultados ainda pouco discutidos na literatura. Embora acreditemos que, assim como outras infecções congênitas, a positividade no sangue de cordão umbilical ou no LA, provavelmente, indiquem a passagem do vírus pela placenta, ainda não está claro se a presença do vírus nos compartimentos pode de fato comprovar a ocorrência de infecção fetal. Em nosso estudo, encontramos 11 casos com amostras de LA e/ou sangue de cordão positivos para SARS-CoV-2, porém, apenas dois casos dentre os RNs testados (2/8) apresentaram swab positivo após o nascimento, correspondendo a 25% desse grupo. Assim como observado neste estudo, a diferença observada entre a taxa de transmissão transplacentária e a taxa de infecção fetal já é bem conhecida com outros patógenos,⁴⁸ sendo resultado do equilíbrio entre a capacidade do vírus comprometer o feto e a resposta imunológica fetal. Outros estudos são necessários para melhor entendimento desses achados.

A escolha da classificação da OMS⁷⁹ também se baseou no fato de que todas as nossas coletas foram realizadas intraparto. O diagnóstico inequívoco da maioria das infecções congênitas é tipicamente feito pela detecção do organismo em cultura ou identificação do RNA/DNA do patógeno no LA antes do início do trabalho de parto ou em sangue fetal/neonatal coletados de forma asséptica. Apesar de todos os esforços para que as amostras fossem obtidas com a técnica adequada, de fato, não conseguimos excluir completamente a possibilidade de contaminação durante a coleta. Dessa forma, acreditamos que a presença do vírus em diferentes amostras permite a comprovação da exposição fetal ao vírus, minimizando a possibilidade de

contaminação superficial por fluidos maternos, como sangue ou secreção vaginal e, conseqüentemente, os falso-positivos.

Em nossa amostra, observamos dois casos que apresentaram RT-PCR positivo no colostro. Em um dos casos (caso 2, Tabela 6), o sangue de cordão também foi positivo; no segundo caso (caso 12, Tabela 6), nenhum dos compartimentos testados resultou positivo. Assim como demonstrado em nosso estudo, outras pesquisas também observaram a presença de RNA do SARS-CoV-2 no colostro e leite materno, com taxas semelhantes às nossas. Chambers e cols.⁷¹ relataram um caso positivo dentre 18 testados e Fenizia e cols.²⁵ relataram um caso positivo em 11 amostras testadas. Em nosso estudo, a fim de avaliar a capacidade de replicação e infectividade viral nas amostras, realizamos a cultura viral nos dois casos positivos e, em ambos os casos, a cultura viral do colostro foi negativa. Este resultado sugere que, apesar da possível excreção no colostro, o vírus não apresenta capacidade de replicação, sendo, portanto, incapaz de causar infecção por essa via. No entanto, o elevado teor lipídico característico do colostro pode ter limitado o crescimento viral nessas amostras, sendo necessários estudos maiores e com avaliações adicionais.

Curiosamente, algumas amostras de LA e/ou sangue de cordão umbilical permaneceram positivas por mais de quatro semanas após a infecção materna. A presença prolongada do vírus em qualquer sítio biológico é incomum e sua presença não indica necessariamente que o vírus seja capaz de se replicar neste local e causar infecção. Dessa forma, assim como é realizado em outras infecções como *Toxoplasma gondii* e CMV,⁴⁸ a realização de amniocentese algumas semanas após a infecção poderia ser útil na investigação dos casos de infecção materna no primeiro e segundo trimestres gestacionais, possibilitando melhor entendimento da transmissão vertical do SARS-CoV-2 neste grupo de pacientes. Rosen e cols,⁹² em coorte prospectiva com 55 gestantes com COVID-19 no primeiro (28/55; 51%) e segundo trimestre de gestação (27/55; 49%), não observaram nenhum caso de transmissão vertical, diagnosticada por meio da análise do LA obtido por amniocentese (0/22). A avaliação por outros métodos diagnósticos como a cultura viral pode ser útil para complementar a avaliação desses casos.

A idade gestacional da exposição materna tem grande influência na frequência e gravidade dos casos de infecção congênita. Infecções pelo vírus da rubéola e CMV, por exemplo, apresentam comprometimento fetal inversamente proporcional à idade gestacional da exposição, sendo pouco significativa em idades gestacionais mais avançadas.⁴⁸ Já na infecção pelo *Toxoplasma gondii*, a taxa de transmissão vertical aumenta de acordo com a idade gestacional, apesar do comprometimento fetal ser menor nos casos mais tardios.⁴⁸

Em nosso estudo, a infecção pelo SARS-CoV-2 no terceiro trimestre gestacional apresentou relação significativa com a presença de viremia no momento do parto, mas não com a positividade no LA ou sangue de cordão. No entanto, nossa casuística contemplou apenas três pacientes com infecção no primeiro trimestre gestacional, limitando as conclusões sobre a transmissão vertical em idades gestacionais mais precoces. Até o momento, ainda não temos dados suficientes sobre a influência da idade gestacional no risco de transmissão vertical pelo SARS-CoV-2, no entanto, dada a escassez de publicações com gestantes infectadas em idades gestacionais mais precoces, é possível que a taxa de infecção e o grau de comprometimento fetal sejam maiores do que os descritos até o momento.

Alguns autores também buscaram identificar outros possíveis fatores de risco associados à transmissão vertical em gestantes com COVID-19, como a gravidade da doença,^{25,93} a via de parto^{66,67} e fatores socioeconômicos.⁶⁷ Em recente publicação realizada na Clínica Obstétrica do HC-FMUSP, Arcos Junior e cols.⁹³ observaram que os casos de COVID-19 moderada apresentam maior frequência de lesões histológicas placentárias, como a vilite, em relação às placentas de gestantes com COVID-19 leve ou grave, provavelmente associados ao tempo e ao grau de inflamação em resposta ao vírus. No entanto, outros autores²⁵ não observaram associação entre a gravidade da doença e o risco de transmissão vertical, não sendo possível estabelecer correlação entre os achados histológicos placentários, com o grau de comprometimento fetal e neonatal. Outros estudos histológicos e imunohistoquímicos com placentas de pacientes com COVID-19 na gestação são fundamentais para melhor entendimento do mecanismo viral de transmissão transplacentária e dos fatores associados a este desfecho.

Um dos achados mais relevantes do nosso estudo foi de que o intervalo entre a infecção materna e o parto tem influência na positividade dos compartimentos que expõe o feto ao vírus (LA e sangue de cordão umbilical), e, conseqüentemente, no risco de transmissão vertical. Até o momento, este foi o primeiro estudo que conseguiu comprovar esta associação, que tem grande importância clínica. Considerando o exposto acima, acreditamos que sempre que as condições clínicas maternas e fetais forem favoráveis, deve-se evitar a realização do parto na fase aguda da doença. Ainda, baseado nos resultados encontrados, sugerimos que todos os RNs oriundos de mães com COVID-19 na gestação devam ser testados e monitorados clinicamente, principalmente nos casos de infecção recente.

Sem dúvidas, a pandemia da COVID-19 foi um dos eventos mais impactantes dos últimos tempos. Apesar dos inúmeros avanços técnico-científicos, foram necessários dois anos para que conseguíssemos controlar a disseminação da doença no mundo. Acreditamos que a pandemia nos trouxe um legado muito importante, e a consciência de que, na iminência de uma epidemia,

a resposta rápida em pesquisa é fundamental. Nos grupos de maior risco, como as gestantes, essa ação pode possibilitar que as pesquisas sejam mais eficientes, possibilitando melhor assistência ao binômio materno-fetal. Com certeza, a forma de investigação será diferente diante de novos surtos se conseguirmos manter o raciocínio clínico e científico caminhando paralelamente.

7 CONCLUSÕES

7 CONCLUSÕES

O presente estudo realizado com gestantes não vacinadas com diagnóstico de COVID-19 permitiu concluir que:

- A transmissão vertical do SARS-CoV-2 é possível;
- Aproximadamente, um sexto das gestantes sintomáticas com COVID-19 durante a gestação apresenta RT-PCR positivo para SARS-CoV-2 no sangue materno (viremia) no momento do parto;
- O vírus SARS-CoV-2 foi identificado no LA e no sangue de cordão ao nascimento;
- Foi identificada presença de SARS-CoV-2 no colostro materno;
- Intervalo curto entre a infecção materna pelo SARS-CoV-2 e o parto é um fator de risco para transmissão vertical.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- 1) Johnson KD, Harris C, Cain JK, Hummer C, Goyal H, Perisetti A. Pulmonary and extra-pulmonary clinical manifestations of COVID-19. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:526.
- 2) Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H, Cao B. Clinical course and risk-factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395(10229):1054-1062.
- 3) Allotey J, Stallings F, Bonet M, Yap, M., Chatterjee S, Kew T, Debenham L, Llavall AC, Dixit A, Zhou D, Balaji R, Lee SI, Qiu X, Yuan M, Coomar D, Sheikh J, Lawson H, Ansari K, van Wely M, van Leeuwen E, Kostova E, Kunst H, Khalil A, Tiberi S, Brizuela V, Broutet N, Kara E, Kim CR, Thorson A, Oladapo OT, Mofenson L, Zamora J, Thangaratinam S; for PregCOV-19 Living Systematic Review Consortium. Clinical manifestations, risk factors, and maternal and perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2020;370:m3320.
- 4) Serra FE, Francisco RPV, de Rossi P, de Lourdes Brizot M, Rodrigues AS. COVID-19 outcomes in hospitalized puerperal, pregnant, and neither pregnant nor puerperal women. *PLoS One*. 2021;16(11):e0259911.
- 5) Ellington S, Strid P, Tong VT, Woodworth K, Galang RR, Zambrano LD, Nahabedian J, Anderson K, Gilboa SM. Characteristics of women of reproductive age with laboratory-confirmed SARS-CoV-2 infection by pregnancy status - United States, January 22-June 7, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020;69(25):769-775.
- 6) Yoon SH, Kang JM, Ahn JG. Clinical outcomes of 201 neonates born to mothers with COVID-19: a systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2020;24:7804-15.
- 7) Schwartz DA, Dhaliwal A. Infections in pregnancy with COVID-19 and other respiratory viruses are rarely, if ever, transmitted to the fetus: experiences with coronaviruses, HPIV, hMPV, RSV and influenza. *Arch Pathol Lab Med* 2020.doi: 10.5858/arpa.2020-0211-SA.
- 8) Mahyuddin AP, Kanneganti A, Wong JLL, Dimri PS, Su LL, Biswas A, Illanes SE, Mattar CNZ, Huang RY, Choolani M. Mechanisms and evidence of vertical transmission of infections in pregnancy including SARS-CoV-2. *Prenat Diagn*. 2020;40(13):1655-1670
- 9) Schwartz DA, Graham AL. Potential maternal and infant outcomes from (Wuhan) coronavirus 2019-nCoV infecting pregnant women: lessons from SARS, MERS, and other human coronavirus infections. *Viruses*. 2020;12(2):194.
- 10) Knight M, Bunch K, Vousden N, Morris E, Simpson N, Gale C, O'Brien P, Quigley M, Brocklehurst P, Kurinczuk JJ; UK Obstetric Surveillance System SARS-CoV-2 Infection in Pregnancy Collaborative Group. SARS-CoV-2 infection in pregnancy collaborative group. Characteristics and outcomes of pregnant women admitted to hospital with confirmed SARS-CoV-2 infection in UK: national population-based cohort study. *BMJ*. 2020;369:m2107.

- 11) Liu W, Wenbin L, Zhou Z, Liu S, Rong Z. Clinical characteristics of 19 neonates born to mothers with COVID-19. *Front Med.* 2020;14(2):193-8.
- 12) Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, Li J, Zhao D, Xu D, Gong Q, Liao J, Yang H, Hou W, Zhang Y. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. *Lancet.* 2020; 395(10226):809-15.
- 13) Yang Z, Liu Y. Vertical transmission of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: a systematic review. *Am J Perinatol.* 2020;37(10):1055-60.
- 14) Egloff C, Vauloup-Fellous C, Picone O, Mandelbrot L, Roques P. Evidence and possible mechanisms of rare maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2. *J Clin Virol.* 2020;128:104447.
- 15) Remaeus K, Savchenko J, Brismar, Brusell Gidlöf S, Graner S, Jones E, Molin J, Saltvedt S, Wallström T, Pettersson K. Characteristics and short-term obstetric outcomes in a case series of 67 women test-positive for SARS-CoV-2 in Stockholm, Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(12):1626-31.
- 16) Huntley B, Huntley E, Di Mascio D, Chen T, Berghella V, Chauhan S. Rates of maternal and perinatal mortality and vertical transmission in pregnancies complicated by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection: a systematic review. *Obstet Gynecol.* 2020;136(2):303-312.
- 17) Alzamora MC, Paredes T, Caceres D, Webb CM, Valdez LM, La Rosa M. Severe COVID-19 during pregnancy and possible vertical transmission. *Am J Perinatol.* 2020;37(8):861-5.
- 18) Juan J, Gil MM, Rong Z, Zhang Y, Yang H, Poon LC. Effect of coronavirus disease 2019 (COVID-19) on maternal, perinatal and neonatal outcome: systematic review. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2020;56(1):15-27.
- 19) Yu, N, Li W, Kang Q, Xiong Z, Wang S, Lin X, Liu Y, Xiao J, Liu H, Deng D, Chen S, Zeng W, Feng L, Wu J. Clinical features and obstetric and neonatal outcomes of pregnant patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective, single-center, descriptive study. *Lancet Infect Dis.* 2020; 20(5):559-64.
- 20) Dong L, Tian J, He S, Zhu C, Wang J, Liu C, Yang J. Possible vertical transmission of SARS-CoV-2 from an infected mother to her newborn. *JAMA* 2020; 323(18):1846-8.
- 21) Zeng L, Xia S, Yuan W, Yan K, Xiao F, Shao J, Zhou W. Neonatal early-onset infection with SARS-CoV-2 in 33 neonates born to mothers with COVID-19 in Wuhan, China. *JAMA Pediatr.* 2020;174(7):722-5.
- 22) WAPM (World Association of Perinatal Medicine). Working Group on COVID-19. Maternal and perinatal outcomes of pregnant women with SARS-CoV-2 infection. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2021;57(2):232-241.
- 23) Wang S, Guo L, Chen L, Liu W, Cao Y, Zhang J, Feng L. A case report of neonatal 2019 coronavirus disease in China. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(15):853-857.

- 24) Auriti C, De Rose DU, Tzialla C, Caforio L, Ciccia M, Manzoni P, Stronati M. Vertical transmission of SARS-CoV-2 (COVID-19): are hypotheses more than evidences? *Am J Perinatol.* 2020;37(S 02):S31-8.
- 25) Fenizia C, Biasin M, Cetin I, Vergani P, Mileto D, Spinillo A, Gismondo MR, Perotti F, Callegari C, Mancon A, Cammarata S, Beretta I, Nebuloni M, Trabattoni D, Clerici M, Savasi V. Analysis of SARS-CoV-2 vertical transmission during pregnancy. *Nat Commun.* 2020;11(1):5128.
- 26) Sevilla-Montoya R, Hidalgo-Bravo A, Estrada-Gutiérrez G, Villavicencio-Carrisoza O, Leon-Juarez M, Villegas-Mota I, Espino-Y-Sosa S, Monroy-Muñoz IE, Martinez-Portilla RJ, Poon LC, Cardona-Pérez JA, Helguera-Repetto AC; Collaborators. Evidence of possible SARS-CoV-2 vertical transmission according to World Health Organization criteria in asymptomatic pregnant women. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2021;58(6):900-8.
- 27) Yan J, Guo J, Fan C, Juan J, Yu X, Li J, Feng L, Chen H, Qiao Y, Lei D, Wang C, Xiong G, Xiao F, He W, Pang Q, Hu X, Wang S, Chen D, Zhang Y, Poon LC, Yang H. Coronavirus disease 2019 in pregnant women: a report based on 116 cases. *Am J Obstet Gynecol.* 2020; 223(1):111.e1–111.e14.
- 28) Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O, et al. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2021;224(1):35-53.e3.
- 29) Correia CR, Marçal M, Vieira F, Santos E, Novais C, Maria AT, Malveiro D, Prior AR, Aguiar M, Salazar A, Gouvêa Pinto C, Carvalho Rodrigues L, Pessanha MA, Borges V, Isidro J, Gomes JP, Duarte S, Vieira L, Costa I, Alves MJ, Calhau C, Guiomar R, Tuna ML. Congenital SARS-CoV-2 infection in a neonate with Severe Acute Respiratory Syndrome. *Pediatr Infect Dis J.* 2020;39(12):e439-e443.
- 30) Vivanti AJ, Vauloup-Fellous C, Prevot S, Zupan V, Suffee C, Do Cao J, Benachi A, De Luca D. Transplacental transmission of SARS-CoV-2 infection. *Nat Commun.* 2020;11(1):3572.
- 31) Yang J, Petitjean SJL, Koehler M, Zhang Q, Dumitru AC, Chen W, Derclaye S, Vincent SP, Soumillion P, Alsteen D. Molecular interaction and inhibition of SARS-CoV-2 binding to the ACE2 receptor. *Nat Commun.* 2020;11(1):4541
- 32) Yan R, Zhang Y, Li Y, Xia L, Guo Y, Zhou Q. Structural basis for the recognition of SARS-CoV-2 by full-length human ACE2. *Science.* 2020;367(6485):1444-1448.
- 33) Hamming I, Timens W, Bulthuis ML, Lely AT, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol.* 2004;203(2):631-7.
- 34) To KF, Lo AW. Exploring the pathogenesis of severe acute respiratory syndrome (SARS): the tissue distribution of the coronavirus (SARS-CoV) and its putative receptor, angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2). *J Pathol.* 2004;203(3):740-3.
- 35) Zou X, Chen K, Zou J, Han P, Hao J, Han Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. *Front Med.* 2020;14(2):185-192.

- 36) Dhaundiyal A, Kumari P, Jawalekar SS, Chauhan G, Kalra S, Navik U. Is highly expressed ACE 2 in pregnant women "a curse" in times of COVID-19 pandemic? *Life Sci.* 2021;264:118676.
- 37) Gengler C, Dubruc E, Favre G, Greub G, de Leval L, Baud D. SARS-CoV-2 ACE-receptor detection in the placenta throughout pregnancy. *Clin Microbiol Infect.* 2021;27(3):489-490.
- 38) Ander SE, Diamond MS, Coyne CB. Immune responses at the maternal-fetal interface. *Sci Immunol.* 2019;4(31):eaat6114.
- 39) van Egmond A, van der Keur C, Swings GM, Scherjon SA, Claas FH. The possible role of virus specific CD8(+) memory T cells in decidual tissue. *J Reprod Immunol.* 2016;113:1-8.
- 40) Tang MX, Hu XH, Liu ZZ, Kwak-Kim J, Liao AH. What are the roles of macrophages and monocytes in human pregnancy? *J Reprod Immunol.* 2015;112:73-80.
- 41) Yang F, Zheng Q, Jin L. Dynamic function and composition changes of immune cells during normal and pathological pregnancy at the maternal-fetal interface. *Front Immunol.* 2019;18;10:2317.
- 42) Baergen RN, Heller DS. Placental pathology in Covid-19 positive mothers: preliminary findings. *Pediatr Dev Pathol.* 2020;23(3):177-180
- 43) Sharps MC, Hayes DJL, Lee S, Zou Z, Brady CA, Almoghrabi Y. A structured review of placental morphology and histopathological lesions associated with SARS-CoV-2 infection. *Placenta.* 2020;101:13-29.
- 44) Schwartz DA, Morotti D. Placental pathology of COVID-19 with and without fetal and neonatal infection: trophoblast necrosis and chronic histiocytic intervillitis as risk factors for transplacental transmission of SARS-CoV-2. *Viruses.* 2020;12(11):1308.
- 45) Schwartz DA, Baldewijns M, Benachi A, Bugatti M, Collins RRJ, De Luca D, De Luca D, Facchetti F, Linn RL, Marcelis L, Morotti D, Morotti R, Parks WT, Patanè L, Prevot S, Pulinx B, Rajaram V, Strybol D, Thomas K, Vivanti AJ. Chronic histiocytic intervillitis with trophoblast necrosis is a risk factor associated with placental infection from coronavirus disease 2019 (COVID-19) and intrauterine maternal-fetal severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Transmission in live-born and stillborn infants. *Arch Pathol Lab Med.* 2021;145(5):517-528
- 46) Heerema-McKenney A. Defense and infection of the human placenta. *APMIS.* 2018;126(7):570-588.
- 47) Nahmias AJ, Walls KW, Stewart JA, Herrmann KL, Flynt WJ Jr. The ToRCH complex-perinatal infections associated with toxoplasmosis, rubella, cytomegalo and herpes simplex viruses. *Pediatr Res.* 1971;5:405-406.
- 48) Voordouw B, Rockx B, Jaenisch T, Fraaij P, Mayaud P, Vossen A, Koopemans M. Performance of Zika assays in the context of *Toxoplasma gondii*, Parvovirus B19, Rubella virus, and Cytomegalovirus (TORCH) diagnostic assays. *Clin Microbiol Rev.* 2019; 33(1):e00130-18.

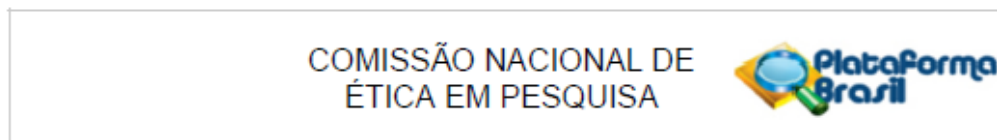
- 49) Zaigham M, Holmberg A, Karlberg ML, Lindsjo OK, Jokubkiene I, Sandblom J, Strand AS, Andersson O, Hansson SR, Nord DG, Tannenbergs P. Intrauterine vertical SARS-CoV-2 infection: a case confirming transplacental transmission followed by divergence of the viral genome. *BJOG*. 2021. 128(8):1388-94.
- 50) Arora N, Sadovsky Y, Dermody TS, Coyne CB. Microbial vertical transmission during human pregnancy. *Cell Host Microbe*. 2017;21(5):561-7.
- 51) Meaney-Delman D, Oduyebo T, Polen KND, White JL, Bingham AM, Slavinski SA, Heberlein-Larson L, St George K, Rakeman JL, Hills S, Olson CK, Adamski A, Culver Barlow L, Lee EH, Likos AM, Muñoz JL, Petersen EE, Dufort EM, Dean AB, Cortese MM, Santiago GA, Bhatnagar J, Powers AM, Zaki S, Petersen LR, Jamieson DJ, Honein MA; U.S. Zika Pregnancy Registry Prolonged Viremia Working Group. Prolonged detection of Zika virus RNA in pregnant women. *Obstet Gynecol*. 2016;128(4):724-30.
- 52) Wang W, Xu Y, Gao R, u R, Han K, Wu G, Tan W. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. *JAMA*. 2020;323(18):1843-44.
- 53) Andersson MI, Arancibia-Carcamo CV, Auckland K, Baillie JK, Barnes E, Beneke T, Bibi S, Brooks T, Carroll M, Crook D, Dingle K, Dold C, Downs LO, Dunn L, Eyre DW, Gilbert Jaramillo J, Harvala H, Hoosdally S, Ijaz S, James T, James W, Jeffery K, Justice A, Klenerman P, Knight JC, Knight M, Liu X, Lumley SF, Matthews PC, McNaughton AL, Mentzer AJ, Mongkolsapaya J, Oakley S, Oliveira MS, Peto T, Ploeg RJ, Ratcliff J, Robbins MJ, Roberts DJ, Rudkin J, Russell RA, Screaton G, Semple MG, Skelly D, Simmonds P, Stoesser N, Turtle L, Wareing S, Zambon M. SARS-CoV-2 RNA detected in blood products from patients with COVID-19 is not associated with infectious virus. *Wellcome Open Res*. 2020;5:181.
- 54) Tabata T, Petitt M, Puerta-Guardo H, Michlmayr D, Wang C, Fang-Hoover J, Harris E, Pereira L. Zika virus targets different primary human placental cells, suggesting two routes for vertical transmission. *Cell Host Microbe*. 2016;20(2):155-66.
- 55) Weisblum Y, Panet A, Haimov-Kochman R, Wolf DG. Models of vertical cytomegalovirus (CMV) transmission and pathogenesis. *Semin Immunopathol*. 2014;36(6):615-25.
- 56) Maidji E, McDonagh S, Genbacev O, Tabata T, Pereira L. Maternal antibodies enhance or prevent cytomegalovirus infection in the placenta by neonatal Fc receptor-mediated transcytosis. *Am J Pathol*. 2006;168(4):1210-26.
- 57) Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu NH, Nitsche A, Müller MA, Drosten C, Pöhlmann S. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8.
- 58) Ziegler CGK, Allon SJ, Nyquist SK, Mbanjo IM, Miao VN, Tzouanas CN, Cao Y, Yousif AS, Bals J, Hauser BM, Feldman J, Muus C, Wadsworth MH 2nd, Kazer SW, Hughes TK, Doran B, Gatter GJ, Vukovic M, Taliaferro F, Mead BE, Guo Z, Wang JP, Gras D, Plaisant M, Ansari M, Angelidis I, Adler H, Sucre JMS, Taylor CJ, Lin B, Waghray A, Mitsialis V, Dwyer DF, Buchheit KM, Boyce JA, Barrett NA, Laidlaw TM, Carroll SL, Colonna L, Tkachev V, Peterson CW, Yu A, Zheng HB, Gideon HP, Winchell CG, Lin PL, Bingle CD, Snapper SB, Kropski JA, Theis FJ, Schiller HB, Zaragosi LE, Barbry P, Leslie A, Kiem HP, Flynn JL, Fortune SM, Berger B, Finberg RW, Kean LS, Garber M,

- Schmidt AG, Lingwood D, Shalek AK, Ordovas-Montanes J; HCA Lung Biological Network. Electronic address: lung-network@humancellatlas.org; HCA Lung Biological Network. SARS-CoV-2 receptor ACE2 is an interferon-stimulated gene in human airway epithelial cells and is detected in specific cell subsets across tissues. *Cell*. 2020;181(5):1016-1035.e19
- 59) Pique-Regi R, Romero R, Tarca AL, Luca F, Xu Y, Alazizi A. Does the human placenta express the canonical cell entry mediators for SARS-CoV-2? *Elife*. 2020;9:e58716.
- 60) Colson A, Depoix CL, Dessilly G, Baldin P, Danhaive O, Hubinont C, Sonveaux P, Debiève F. Clinical and in vitro evidence against placenta infection at term by severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Am J Pathol*. 2021;191(9):1610-1623.
- 61) Tallarek AC, Urbschat C, Brito LF, Stanelle-Bertram S, Krasemann S, Frascaroli G, Thiele K, Wieczorek A, Felber N, Lütgehetmann M, Markert UR, Hecher K, Brune W, Stahl F, Gabriel G, Diemert A, Arck PC. Inefficient placental virus replication and absence of neonatal cell-specific immunity upon SARS-CoV-2 infection during pregnancy. *Front Immunol* 2021;12:698578.
- 62) Bayer A, Delorme-Axford E, Sleighter C, Frey TK, Trobaugh DW, Klimstra WB, Emert-Sedlak LA, Smithgall TE, Kinchington PR, Vadia S, Seveau S, Boyle JP, Coyne CB, Sadovsky Y. Human trophoblasts confer resistance to viruses implicated in perinatal infection. *Am J Obstet Gynecol*. 2015;212(1):71.e1-71.e8.
- 63) Yap M, Debenham L, Kew T, Chatterjee SR, Allotey J, Stallings E, Coomar D, Lee SI, Qiu X, Yuan M, Clavé Llavall A, Dixit A, Zhou D, Balaji R, van Wely M, Kostova E, van Leeuwen E, Mofenson L, Kunst H, Khalil A, Tiberi S, Thomas J, Brizuela V, Broutet N, Kara E, Kim C, Thorson A, Rayco-Solon P, Pardo-Hernandez H, Oladapo OT, Zamora J, Bonet M, Thangaratnam S; PregCOV-19 Consortium. PregCOV-19 Consortium. pregnancy and postpartum: a living systematic review protocol. *BMJ Open*. 2020;10(12):e041868.
- 64) van Doorn AS, Meijer B, Frampton CMA, Barclay ML, de Boer NKH. Systematic review with meta-analysis: SARS-CoV-2 stool testing and the potential for faecal-oral transmission. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020;52(8):1276-88.
- 65) Ferrazzi E, Frigerio L, Savasi V, Vergani P, Prefumo F, Barresi S, Bianchi S, Ciriello E, Facchinetti F, Gervasi MT, Iurlaro E, Kustermann A, Mangili G, Mosca F, Patanè L, Spazzini D, Spinillo A, Trojano G, Vignali M, Villa A, Zuccotti GV, Parazzini F, Cetin I. Vaginal delivery in SARS-CoV-2-infected pregnant women in Northern Italy: a retrospective analysis. *BJOG*. 2020;127(9):1116-21.
- 66) Walker KF, O'Donoghue K, Grace N, Dorling J, Comeau JL, Li W, Thornton JG. Maternal transmission of SARS-COV-2 to the neonate, and possible routes for such transmission: a systematic review and critical analysis. *BJOG*. 2020;127(11):1324-36.
- 67) Angelidou A, Sullivan K, Melvin PR, Shui JE, Goldfarb IT, Bartolome R, Chaudhary N, Vaidya R, Culic I, Singh R, Yanni D, Patrizi S, Hudak ML, Parker MG, Belfort MB. Association of maternal perinatal SARS-CoV-2 infection with neonatal outcomes during the COVID-19 pandemic in Massachusetts. *JAMA Netw Open*. 2021;4(4):e217523.

- 68) Kilic T, Kilic S, Berber NK, Gunduz A, Ersoy Y. Investigation of SARS-CoV-2 RNA in milk produced by women with COVID-19 and follow-up of their infants: A preliminary study. *Int J Clin Pract.* 2021;75(7):e14175.
- 69) Costa S, Posteraro B, Marchetti S, Tamburrini E, Carducci B, Lanzone A, Valentini P, Buonsenso D, Sanguinetti M, Vento G, Cattani P. Excretion of SARS-CoV-2 in human breast milk. *Clin Microbiol Infect.* 2020; 26(10):1430-2.
- 70) Tam PCK, Ly KM, Kernich ML, Spurrier N, Lawrence D, Gordon DL, Tucker EC. Detectable severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in human breast milk of a mildly symptomatic patient with coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Infect Dis* 2020;72(1):128-30.
- 71) Chambers C, Krogstad P, Bertrand K, Contreras SD, Tobin NH, Bode L, Aldrovandi G. Evaluation for SARS-CoV-2 in breast milk from 18 infected women. *JAMA.* 2020;324(13):1347-8.
- 72) Li M, Xu M, Zhan W, Han T, Zhang G, Lu Y. Report of the first case of mother and infant infections with 2019 novel coronavirus in Xinyang City Henan Province. *Chin J Infect Dis.* 2020;12:7.
- 73) Hu X, Gao J, Luo X, Feng L, Liu W, Chen J, Benachi A, De Luca D, Chen L. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) vertical transmission in neonates born to mothers with coronavirus disease 2019 (COVID-19) pneumonia. *Obstet Gynecol.* 2020;136(1):65-7.
- 74) Flaherman VJ, Afshar Y, Boscardin WJ, Keller RL, Mardy A, Prah MK, Phillips C, Asiodu IV, Berghella V, Chambers BD, Crear-Perry J, Jamieson DJ, Jacoby VL, Gaw SL. Infant outcomes following maternal infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2): first report from the pregnancy coronavirus outcomes registry (PRIORITY) Study. *Clin Infect Dis.* 2021;73(9):e2810-3.
- 75) Cardona-Pérez JA, Villegas-Mota I, Helguera-Repetto AC, Acevedo-Gallegos S, Rodríguez-Bosch M, Aguinaga-Ríos M, Coronado-Zarco I, León-Juárez M, Aguilar-Ayala D, Valdespino-Vázquez MY, Moreno-Verduzco ER, Rivera MA, Valencia-Contreras C, Gómez-Sousa ML, Solís-Paredes M, Frías-Madrid B, Velasco-Téllez C, Rodríguez-Aldama JC, Avila-Sosa V, Galván-Contreras R, Figueroa-Damian R, Cortés-Bonilla M, Estrada-Gutierrez G, Espino-Y-Sosa S, Irlés C. Prevalence, clinical features, and outcomes of SARS-CoV-2 infection in pregnant women with or without mild/moderate symptoms: Results from universal screening in a tertiary care center in Mexico City, Mexico. *PLoS One.* 2021;16(4):e0249584.
- 76) Sinaci S, Ocal DF, Seven B, Anuk AT, Besimoglu B, Keven MC. Vertical transmission of SARS-CoV-2: A prospective cross-sectional study from a tertiary center. *J Med Virol.* 2021;93(10):5864-72.
- 77) Shah PS, Diambomba Y, Acharya G, Morris SK, Bitnun A. Classification system and case definition for SARS-CoV-2 infection in pregnant women, fetuses, and neonates. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2020;99(5):565-8.

- 78) World Health Organization. Definition and categorization of the timing of mother-to-child transmission of SARS-CoV-2. 7 February 2021. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-mother-to-child-transmission-2021.1> Accessed in: June 20, 2022.
- 79) Blumberg DA, Underwood MA, Hedriana HL, Lakshminrusimha S. Vertical transmission of SARS-CoV-2: what is the optimal definition? *Am J Perinatol.* 2020;37(8), 769-72.
- 80) World Health Organization. Public Health surveillance for COVID-19. Interim guidance. Geneva: World Health Organization; 2022. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-SurveillanceGuidance-2022.2> Accessed in July 22, 2022.
- 81) Jacofsky D, Jacofsky EM, Jacoksky M. Understanding antibody testing for COVID-19. *J Arthroplasty.* 2020;35(7S):74-81.
- 82) Visseaux B, Le Hingrat Q, Collin G, Ferré V, Storto A, Ichou H, Bouzid D, Poey N, de Montmollin E, Descamps D, Houhou-Fidouh N. Evaluation of the RealStar® SARS-CoV-2 RT-PCR kit RUO performances and limit of detection. *J Clin Virol.* 2020;129:104520.
- 83) Harcourt J, Tamin A, Lu X, Kamili S, Sakthivel SK, Murray J, Queen K, Tao Y, Paden CR, Zhang J, Li Y, Uehara A, Wang H, Goldsmith C, Bullock HA, Wang L, Whitaker B, Lynch B, Gautam R, Schindewolf C, Lokugamage KG, Scharton D, Plante JA, Mirchandani D, Widen SG, Narayanan K, Makino S, Ksiazek TG, Plante KS, Weaver SC, Lindstrom S, Tong S, Menachery VD, Thornburg NJ. Isolation and characterization of SARS-CoV-2 from the first US COVID-19 patient. *bioRxiv [Preprint].* 2020;2020.03.02.972935.
- 84) Lennette EH, Schmidt NJ, editors. *Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infections*, 5th ed, Chapter 3. Washington, D.C. American Public Health Association, 1979.
- 85) Ammerman NC, Beier-Sexton M, Azad AF. Growth and maintenance of Vero cell lines. *Curr Protoc Microbiol.* 2008; Appendix 4: Appendix 4E. doi: 10.1002/9780471729259.mca04es11.
- 86) Ayed A, Embaireeg A, Benawadh A, Al-Fouzan W, Hammoud M, Al-Hathal M, Alzaydai A, Ahmad A, Ayed M. Maternal and perinatal characteristics and outcomes of pregnancies complicated with COVID-19 in Kuwait. *BMC Pregnancy Childbirth.* 2020; 20(1):754.
- 87) Norman M, Navér L, Söderling J, Ahlberg M, Hervius Askling H, Aronsson B, Byström E, Jonsson J, Sengpiel V, Ludvigsson JF, Håkansson S, Stephansson O. Association of maternal SARS-CoV-2 infection in pregnancy with neonatal outcomes. *JAMA* 2021;325(20):2076-86.
- 88) Prabhu M, Cagino K, Matthews KC, Friedlander RL, Glynn SM, Kubiak JM, Yang YJ, Zhao Z, Baergen RN, DiPace JI, Razavi AS, Skupski DW, Snyder JR, Singh HK, Kalish RB, Oxford CM, Riley LE. Pregnancy and postpartum outcomes in a universally tested population for SARS-CoV-2 in New York City: a prospective cohort study. *BJOG.* 2020; 127(12):1548-56.

- 89) Yang R, Mei H, Zheng T, Fu Q, Zhang Y, Buka S, Yao X, Tang Z, Zhang X, Qiu L, Zhang Y, Zhou J, Cao J, Wang Y, Zhou A. Pregnant women with COVID-19 and risk of adverse birth outcomes and maternal-fetal vertical transmission: a population-based cohort study in Wuhan, China. *BMC Med.* 2020;18(1):330.
- 90) Paganoti CF, Rodrigues AS, Francisco RPV, Costa RAD. The influenza vaccine may protect pregnant and postpartum women against severe COVID-19. *Vaccines.* 2022; 28;10(2):206
- 91) Shook LL, Atyeo CG, Yonker LM, Fasano A, Gray KJ, Alter G, Edlow AG. Durability of anti-spike antibodies in infants after maternal COVID-19 vaccination or natural infection. *JAMA.* 2022;327(11):1087-9.
- 92) Rosen H, Bart Y, Zlatkin R, Ben-Sira L, Ben-Bashat DB, Amit S, Cohen C, Regev-Yochay G, Yinon Y. Fetal and perinatal outcome following first and second trimester COVID-19 infection: Evidence from a prospective cohort study. *J Clin Med.* 2021;10(10):2152.
- 93) Arcos Júnior GF, Francisco RPV, Kill B, Peres SV, Gibelli MABC, Ibidi SM, Carvalho WB, Simões AB, Brizot ML, Schultz R, Carvalho MA; HC-FMUSP-Obstetric COVID-19 Study Group. Placental pathological findings in coronavirus disease 2019: Perinatal outcomes. *Placenta.* 2022;128:23-8.

ANEXOS**ANEXO A - Aprovação da Comissão de Ética para Análise de Pesquisa (CAPPesq) da Diretoria do HCFMUSP****PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP****DADOS DO PROJETO DE PESQUISA**

Título da Pesquisa: Estudo exploratório em gestações com SARS-CoV-2 positivo

Pesquisador: Rossana Pulcineli Vieira Francisco

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 3

CAAE: 30270820.3.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.965.120

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1530161.pdf de 06/04/2020) e do Projeto Detalhado.

INTRODUÇÃO

A síndrome respiratória aguda grave causada pelo coronavírus-2 (SARS-CoV-2) atraiu a atenção mundial nos últimos meses devido sua rápida disseminação e complicações respiratórias graves, causando uma emergência mundial em saúde pública. Esse vírus é de alta patogenicidade e tem período de incubação de 1 a 14 dias com apresentação dos sintomas a partir do 10º dia 1. Em epidemias e pandemias virais prévias (H1N1, SARSCoV, SARS-MERS) 2,3,4 as gestantes apresentaram complicações respiratórias mais graves que os demais grupos devido às modificações fisiológicas da gestação relacionadas aos sistemas imunológico e cardiopulmonar. Na experiência atual com o SARS-CoV-2 os poucos estudos publicados e com casuísticas muito pequenas demonstraram que a gestante parece não ter comprometimento mais grave em relação aos outros pacientes e também não foi observada transmissão vertical 5,6. Entretanto, como esses estudos apresentam limitações, é necessário que investiguemos as questões relacionadas à infecção pelo SARS-CoV-2 na gestação, tais como:

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 3.965.120

- (1) gravidade do acometimento em relação à: idade gestacional, associação de doenças de base, associação com complicações próprias da gestação;
- (2) comprometimento fetal;
- (3) transmissão vertical;
- (4) resultados gestacionais;
- (5) resultados neonatais.

Em vista da pandemia atual e da escassez de estudos na literatura envolvendo gestantes com quadro clínico ou sorologia positiva aliado à necessidade de conhecer o comportamento desta infecção viral em grávidas da nossa população é que vemos a necessidade da realização deste estudo.

HIPÓTESE

Nossa hipótese é de que a infecção pelo coronavírus pode se comportar de maneira diferente em grávidas. Ademais vários fatores de risco ou uso de medicamento poderão interferir na evolução da doença e na transmissão vertical.

METODOLOGIA PROPOSTA**Tipo de Estudo:**

Estudo prospectivo. Seleção e Seguimento dos Casos: Serão selecionados todos os casos de gravidez com suspeita clínica (febre, tosse, dor de garganta, coriza, desconforto respiratório) ou teste positivo para SARS-CoV-2 internados na Clínica Obstétrica do HC/FMUSP. As pacientes que se encontrarem em estado clínico que permita o entendimento serão convidadas a participar do estudo e receberão as informações orais sobre o projeto de pesquisa. Aquelas que aceitarem participar e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido serão incluídas no estudo.

EXECUÇÃO DO ESTUDO:

Todas as gestantes hospitalizadas com suspeita clínica de infecção por SARS-Cov-2, terão amostra de swab de nasofaringe coletada para confirmação diagnóstica. As pacientes que cumprirem os critérios de inclusão serão convidadas a participar do estudo e receberão explicação verbal sobre o estudo e deverão ler e assinar o termo de consentimento que poderá ser por assinatura em papel ou online. Após consentimento as pacientes seguirão as orientações de coleta dos dados.

COLETAS DE DADOS E MATERIAL BIOLÓGICO:

As informações referentes a dados demográficos e história serão coletadas na entrada da paciente no estudo, e atualizadas após o parto na ocasião da alta hospitalar. Os dados do recém-nascido

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040

UF: DF Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.965.120

Cronograma	CRONOGRAMA.pdf	26/03/2020 13:17:02	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	REGULAMENTO_BIORREPOSITORIO Assinado.pdf	26/03/2020 13:10:44	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	DECLARACAO_CUSTOS.pdf	26/03/2020 11:09:31	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	Parecer_Uso_de_dados_digitais.pdf	26/03/2020 10:07:37	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Final_25_03_2020.docx	25/03/2020 16:44:32	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID_19_Gravidéz_projeto_25_03_20 20_FINAL.docx	25/03/2020 16:44:19	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 11 de Abril de 2020

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040
UF: DF Município: BRASILIA
Telefone: (61)3315-6877 E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 3.955.120

RESPOSTA: Foi excluído do título, projeto e do TCLE tudo que era referente a tratamento.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1530161.pdf	06/04/2020 12:16:38		Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_PENDENCIA_DO_CUMENTAL.pdf	06/04/2020 12:15:59	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Final_02_04_2020_ASSINALADO.docx	06/04/2020 11:59:11	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID_19_Gravidex_projeto_02_04_2020_ASSINALADO.docx	06/04/2020 11:58:40	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Folha de Rosto	FolhaDeRosto_apos_Parecer_CONEP_Assinada.pdf	03/04/2020 12:18:27	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	CARTA_RESPOSTA_PARECER_CONEP.pdf	03/04/2020 12:13:31	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	DECLARACAO_CUSTOS_APOS_PARECER_CONEP.pdf	03/04/2020 11:56:20	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Outros	REGULAMENTO_BIORREPOSITORIO_APOS_PARECER_CONEP.pdf	03/04/2020 11:54:58	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Cronograma	CRONOGRAMA_APOS_PARECER_CONEP.pdf	03/04/2020 11:54:06	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Final_02_04_2020.docx	03/04/2020 11:53:39	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	COVID_19_Gravidex_projeto_02_04_2020.docx	03/04/2020 11:10:09	Rossana Pulcineli Vieira Francisco	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040

UF: DF Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 3.965.120

frequência respiratória), tempo de depuração virológica (avaliado pela negatificação do vírus em swabs no 6º e 12º dia), tempo de ventilação mecânica, tempo de internação na UTI, tempo de internação hospitalar, complicações obstétricas associadas; efeitos colaterais (alteração eletrocardiograma, reações cutâneas, hepatotoxicidade, neurotoxicidade), mortalidade materna. Se o poder da amostra não atingir os 80 % de diferença esperada em relação ao tempo de depuração virológica, novos pacientes serão alocados nos grupos. Caso haja evidência da superioridade do grupo tratamento, a randomização será interrompida e o tratamento passará a ser usado para todos os casos graves.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise das respostas ao Parecer Consubstanciado nº 3.950.901 emitido em 02/04/2020:

1 – Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, arquivo "TCLE_Final_25_03_2020":

1.1. Na página 2 de 3 lê-se: "15- Em caso de dano pessoal, diretamente causado pelos procedimentos propostos neste estudo (nexo causal comprovado), você terá direito a tratamento médico na Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.". Embora seja plausível a necessidade de estabelecimento de comprovação denexo causal de dano causado pela participação na pesquisa para os casos de indenizações, o mesmo não se aplica para a prestação de assistência, uma vez que o estabelecimento denexo pode não ser imediato. Visando não prejudicar a participante de pesquisa, solicita-se que seja garantida de forma clara que a prestação de assistência será feita, caso necessária, de forma integral e imediata, sem comprovação denexo causal com os procedimentos da pesquisa e cujos custos deverão ser integralmente cobertos pela pesquisa.

RESPOSTA: No TCLE foi realizada correção referente ao item relacionado à prestação de assistência e indenizações em caso de dano decorrente da pesquisa (item 13).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2. Esta comissão entende que o ensaio clínico proposto no protocolo é um segundo estudo, devendo ser apresentado como um estudo a parte para apreciação na plataforma Brasil com todo rigor que um ensaio clínico exige (cálculo amostral, ponderação de riscos, análise interina, de regras de interrupção etc.). Solicita-se adequação.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040
UF: DF Município: BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5877 E-mail: conepe@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 3.965.120

FMUSP (LIM-60).

CRITÉRIO DE INCLUSÃO

- Paciente gestante com suspeita clínica ou sorologia positiva para SARS-CoV-2.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Não confirmação da infecção materna pelo SARS-CoV-2.
- Desistência por parte da gestante em continuar no estudo.

Objetivo da Pesquisa:**OBJETIVO PRIMÁRIO**

Avaliar a passagem transplacentária do SARS-CoV-2 através da investigação do vírus nos seguintes compartimentos: sangue materno, líquido amniótico, sangue de cordão umbilical, placenta, restos ovulares, colostro.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- 1- Avaliar a evolução clínica e laboratorial das gestantes, a partir do diagnóstico, em relação à:
 - (1) idade gestacional do diagnóstico,
 - (2) sintomas e quadro clínico,
 - (3) parâmetros laboratoriais,
 - (4) parâmetros de imagens radiológicas,
 - (5) presença de doenças maternas prévias à gestação,
 - (6) presença de complicações gestacionais,
 - (6) tempo de internação decorrente da infecção pelo SARS-CoV-2.
- 2- Comparar a evolução das pacientes que estiverem sob uso de medicações ou sem medicações por conta de doenças de base.
- 3- Avaliar a presença de alterações de crescimento e de morfologia fetal após o diagnóstico materno de COVID-19.
- 4- Avaliar o aparecimento de insuficiência placentária e alteração do bem-estar fetal após o diagnóstico materno de COVID-19.
- 5- Avaliar os resultados de parto:
 - (1) tipo de parto,
 - (2) Idade gestacional no parto,
 - (3) presença de complicações no parto.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

Página 04 de 08

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 3.965.120

6. Avaliar resultados neonatais:

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 3.965.120

serão obtidos dos prontuários no Centro Neonatal do ICRHCFMUSP. As coletas de sangue materno, líquido amniótico, sangue de cordão e placenta serão realizadas na ocasião do parto.

Sangue materno: Serão coletados 10mL de sangue materno na chegada da gestante ao Centro Obstétrico do HC/FMUSP para o parto. A coleta de sangue se dará por meio de punção venosa periférica. O sangue será colocado em tubos com EDTA e tubos secos e a seguir centrifugado, separado e armazenado a -80 oC no laboratório de investigação médica em Obstetrícia (LIM-57).

Líquido Amniótico: Na ocasião do parto antes de romper a bolsa amniótica, nos casos em que o parto for cesareana, será coletado 10mL de líquido amniótico em tubo coletor e acondicionado em temperatura a -80 oC no LIM-57 para posterior análise.

Sangue de cordão umbilical:

Na ocasião do parto após a dequitação da placenta será coletado 10 mL de sangue do cordão e colocado em tubos com EDTA e seco e a seguir centrifugado, separado e armazenado a -80 oC no (LIM-57) para posterior análise.

Placenta e Cordão:

As placentas serão obtidas imediatamente após o parto. A placenta será pesada e coletada os fragmentos do tecido (20cm x 20cm). As amostras identificadas serão separadas em porção materna (decídua basal) e porção fetal (córion viloso). As amostras serão colocadas separadamente em sacos de polietileno limpos e encaminhadas para o laboratório de poluição atmosférica (LIM-5) do Departamento de Patologia da FMUSP. Os casos serão amostrados através de um pequeno fragmento de cada fração da placenta e fixados em paraformaldeído a 10%, por 24-48 horas, e então, posterior inclusão em parafina e seccionadas em 6-8µm, o restante do tecido será mantido a - 80°C para posterior análise do coronavírus através da técnica de RT-PCR.

Produtos de abortamento e de óbito:

Nos produtos de abortamento, quando não identificado o feto, o material será tratado da mesma forma que o descrito para a placenta. Nos fetos em óbito será realizada coleta das secreções de narinas e orofaringe, com swab, para investigação de SARS-CoV-2. Nestes fetos será também realizada a autópsia minimamente invasiva com coleta de tecido por agulha para investigação do vírus. **Colostro:** O colostro materno (10mL) será coletado, 48 horas após o parto, em tubo coletor e armazenado a -80 oC no (LIM-57) para posterior detecção do SARS-CoV-2.

Método laboratorial:

O método laboratorial utilizado para detectar a presença do SARS-CoV-2 nos materiais biológicos será a RT-PCR. As amostras biológicas com exceção da placenta serão investigadas para o SARS-CoV-2 no Laboratório de Imunologia Clínica e Alergia do Departamento de Clínica Médica da

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040

UF: DF Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)**HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-
HCFMUSP - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título da pesquisa - **Estudo exploratório em gestações com SARS-CoV-2 positivo**

Pesquisador principal – **Rossana Pulcineli Vieira Francisco**

Departamento/Instituto – **Departamento de Obstetrícia e Ginecologia - HCFMUSP**

O corona vírus tornou-se um problema de saúde mundial e muitos detalhes a respeito da infecção por este vírus precisam de esclarecimentos. Sabemos que você tem sintomas suspeitos ou que foi infectada por este vírus. Por isso, convidamos você a participar desta pesquisa que investiga como evolui a gravidez, o desenvolvimento do feto e se ocorre passagem do vírus da mãe para o feto. Para isso serão utilizadas as informações que constarão em seu prontuário e do seu bebê após o nascimento. Na ocasião do parto também serão coletados materiais biológicos (sangue, líquido amniótico e placenta) para investigar a presença do corona vírus. Os resultados desta pesquisa no futuro nos ajudarão a aconselhar e orientar melhor as grávidas que adquirirem esse vírus.

- 1- Hoje faremos algumas perguntas sobre dados pessoais, hábitos de vida, doenças, gravidezes anteriores, uso de medicações e sintomas atuais.
- 2- No dia do parto será coletada uma amostra do seu sangue (cerca de 10 mL). Antes de você ser submetida a anestesia é necessário a punção com agulha fina de uma veia no braço para administração de soro e medicamentos. Nesse momento colheremos a amostra do sangue, portanto você não terá desconfortos além daqueles que já ocorreriam para o procedimento anestésico.
- 3- Durante o parto, antes de romper a bolsa das águas, será coletado 10 mL de líquido amniótico.
- 4- Depois do bebê nascer e ser entregue ao pediatra, coletaremos também uma amostra do sangue do cordão umbilical que fica na placenta (cerca de 10 mL). Nenhuma amostra será coletada diretamente do bebê, portanto, não há riscos para você e nem para o bebê ao realizarem o procedimento.
- 5- Será coletada uma amostra da placenta (\pm 5 cm). Esse material geralmente é desprezado após o parto.
- 6- Para os casos de abortamentos ou morte do feto uma amostra da placenta (\pm 5 cm), swab de secreção da garganta e nariz, e amostra de pulmão obtida com agulha bem fina, serão realizadas para checar a presença do corona vírus nos fetos.
- 7- Após o nascimento será coletado 5 mL de colostro, que é o primeiro leite que você produz.
- 8- Os materiais biológicos (sangue, líquido amniótico, placenta, colostro) obtidos para esta pesquisa serão armazenados de acordo com a resolução 441/2011, sob-responsabilidade da instituição e gerenciamento pelo pesquisador responsável. Esses materiais biológicos serão utilizados

especificamente para esta pesquisa e o tempo de armazenamento será até a finalização da pesquisa e publicação. Após este período as amostras serão descartadas.

- 9- Todas as informações obtidas serão mantidas em sigilo, seu nome não será divulgado em nenhuma publicação, e os dados serão utilizados exclusivamente para os fins desta pesquisa.
- 10- Caso decida participar, não haverá despesas pessoais para você. Também não haverá compensação financeira.
- 11- Você poderá retirar este consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem qualquer prejuízo ao tratamento que lhe é oferecido na Instituição.
- 12- Você poderá saber os resultados da pesquisa quando ela tiver sido finalizada, basta entrar em contato conosco.
- 13- Em caso de qualquer dano pessoal relacionado a esta pesquisa, você terá direito a assistência e tratamento médico nesta Instituição, bem como às indenizações legalmente estabelecidas.
- 14- Você receberá uma via deste termo de consentimento.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas. O principal investigador é a Profa. Rossana Pulcineli Vieira Francisco que pode ser encontrada no endereço encontrada na Clínica Obstétrica, 10º andar do Instituto Central do Hospital das Clínicas, sala 10093, na Av. Enéas de Carvalho Aguiar nº. 255, Telefone 2661-6209, e-mail: rossana.francisco@hc.fm.usp.br. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: (11) 2661-7585, (11) 2661-1548, (11) 2661-1549, das 7 às 16h de segunda a sexta feira ou por e-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

Fui suficientemente informado a respeito do estudo **“Gestantes com SARS-CoV-2 Positivo: Evolução clínico-laboratorial, passagem transplacentária, resultados gestacionais e neonatais”**.

Eu discuti as informações acima com o Pesquisador Responsável (Rossana Pulcineli Vieira Francisco) ou pessoa por ela delegada _____ sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim os objetivos, os procedimentos, os potenciais desconfortos e riscos e as garantias. Concordo voluntariamente em participar deste estudo, assino este termo de consentimento e recebo um via rubricada pelo pesquisador.

----- Data ____/____/____

Assinatura do participante /representante legal

Nome do participante/representante legal

----- Data ____/____/____

Assinatura do responsável pelo estudo