

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM VIGILÂNCIA SANITÁRIA INSTITUTO  
NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE  
FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ

Linda Mayra Souza de Lima

**ELABORAÇÃO DE GRÁFICO CONTROLE PARA ACOMPANHAMENTO DA  
VACINA DE REFERÊNCIA NA UTILIZAÇÃO NOS ENSAIOS DE POTÊNCIA DA  
VACINA CONTRA COVID-19**

Rio de Janeiro

2023

Linda Mayra Souza de Lima

ELABORAÇÃO DE GRÁFICO CONTROLE PARA ACOMPANHAMENTO DA  
VACINA DE REFERÊNCIA NA UTILIZAÇÃO NOS ENSAIOS DE POTÊNCIA DA  
VACINA CONTRA COVID-19

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Tutora: Renata Faria de Carvalho

Preceptora: Anna Christina Rosa Guimarães

Rio de Janeiro

2023

## Catálogo na Fonte

Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde

Biblioteca

Lima, Linda Mayra Souza de

Elaboração de gráfico controle para acompanhamento da vacina de referência na utilização nos ensaios de potência da vacina contra Covid-19./Linda Mayra Souza de Lima. - Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2023.

64 f.: il.

Monografia (Programa de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços) - Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2023.

Tutora: Renata Faria de Carvalho.

Preceptora: Anna Christina Rosa Guimarães.

1. Vacinas contra COVID-19 - análise. 2. Ensaio de Proficiência Laboratorial - métodos. 3. Controle de Qualidade. I. Título.

Elaboration of a control chart to monitor the use of the reference vaccine in potency trials of the vaccine against Covid-19.

"O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001."

"This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001."

Linda Mayra Souza de Lima

ELABORAÇÃO DE GRÁFICO CONTROLE PARA ACOMPANHAMENTO DA  
VACINA DE REFERÊNCIA NA UTILIZAÇÃO NOS ENSAIOS DE POTÊNCIA DA  
VACINA CONTRA COVID-19

Monografia apresentada ao Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços, do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária, do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, da Fundação Oswaldo Cruz, como requisito para a obtenção do título de Especialista por ter concluído o Curso de Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços.

Aprovado em: \_\_/\_\_/\_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

Dra. Lucia Helena P Bastos  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz)

Dr. Wlamir Corrêa de Moura  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz)

Msc. Daniela Tandler Leibel Bacellar  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz)

ORIENTADORAS

Dra. Renata Faria de Carvalho – (Tutora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz)

Msc. Anna Christina Rosa Guimarães – (Preceptora)  
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS/Fiocruz)

Dedico este trabalho à minha família, pelo seu incentivo incessante, e ao meu namorado pelo seu companheirismo inabalável.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço especialmente aos meus pais, Glória e Rogério, e minha irmã, Livia, pelo apoio e compreensão, e principalmente por toda a luta e esforço não poupado para que eu alcançasse meus sonhos. Essa conquista é de vocês.

Ao meu namorado Vitor, pelo amor e paciência, e principalmente, pela coragem e vontade de viver essa etapa ao meu lado. Compartilhar as alegrias e as angústias com você foi crucial.

À minha tutora, Renata Faria de Carvalho, pelo imenso conhecimento compartilhado e acolhimento. Você é uma pessoa maravilhosa e uma profissional exemplar, agradeço muito pela dedicação, motivação e respeito investido. Todo o sucesso que alcançamos no Laboratório de Vacinas Virais II é fruto do trabalho em equipe, uma equipe guiada por você.

À minha preceptora, Anna Christina Rosa Guimarães, pelos ensinamentos passados e por sua disponibilidade em ajudar.

À Thaís e ao Lucas, por todo o apoio e auxílio em cada etapa desse trabalho, a paciência e disponibilidade de vocês foi essencial para a minha caminhada na residência.

Aos amigos cultivados no DI, Caique, Sophia, Jéssica e Katarine por todas as risadas compartilhadas e companheirismo, em especial a Leticia, por ter sido meu primeiro contato com a instituição e pelo incentivo e carinho compartilhado.

Aos amigos de Fortaleza, que mesmo à distância não deixaram de me proporcionar alegrias e suporte.

Aos amigos da turma da Residência, por todas as discussões enriquecedoras durante as aulas e pelos momentos divertidos compartilhados durante o estágio no IVISA-Rio.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária.

Aos funcionários do Departamento de Imunologia (INCQS / Fiocruz).

E a todos que colaboraram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

## RESUMO

A COVID-19 é uma doença infecciosa causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2) cujos primeiros casos foram descobertos na cidade de Wuhan (China) em dezembro de 2019. De acordo com o relatório da OMS, foi estimado que, até 10 de janeiro de 2023, ocorreram mais de 660 milhões de casos confirmados e mais de 6 milhões de mortes por COVID-19 no mundo. Atualmente, a forma mais eficaz de prevenção à doença e desenvolvimento de sintomas graves é a vacinação. No Brasil a Fiocruz em parceria com a Universidade de Oxford/AstraZeneca produz a vacina recombinante AZD-1222, que é composta por material genético encapsulado em um vírus projetado (adenovírus recombinante de chimpanzé) a fim de transportar esse material genético para as células hospedeiras, que expressarão a proteína S. O ensaio de determinação da potência da vacina recombinante contra COVID-19 (AZD-1222) é realizado através da infectividade de células HEK-293 com a vacina COVID-19 recombinante. Para monitorar e acompanhar o desempenho de um processo de são utilizados gráficos de controle. Estes gráficos, por meio de cálculos estatísticos, estabelecem os limites de controle das características da vacina de referência a ser controlada utilizando a média e o desvio padrão calculados. A vacina de referência é analisada em paralelo com a amostra teste como validação obrigatória do ensaio realizado. O objetivo deste trabalho é elaborar um gráfico controle da vacina de referência para utilização nos ensaios de potência da vacina contra COVID-19, verificando por meio desses gráficos, se o processo está sob controle. O ensaio baseou-se em um teste *in vitro* através da avaliação do efeito de expressão do adenovírus celular, quantificando a infectividade viral da vacina por marcação de cromógeno líquido que produz uma coloração marrom nas culturas de células de rim embrionário humano (HEK-293). O gráfico controle foi elaborado mediante a avaliação de vinte resultados incluídos num gráfico de controle, por intermédio do *software* SPC-PC IV EXPLORER®, para estabelecer os limites mínimo e máximo de controle. Os mesmos foram realizados por dois analistas diferentes e mostraram resultados de potência satisfatórios para ambos, não observando desvios estatisticamente significativos. Além disso, os gráficos de controle não apresentaram falhas nos testes de controle adotados, apresentando flutuações dentro dos limites esperados para um produto biológico.

Palavras-chave: Controle da Qualidade. Ensaio de potência. Vacinas. COVID-19.

## ABSTRACT

COVID-19 is an infectious disease caused by the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) whose first cases were discovered in the city of Wuhan (China) in December 2019. According to WHO report, it was estimated that, as of January 10th 2023, there were over 660 million confirmed cases and over 6 million deaths from COVID-19 worldwide. Currently, the most effective form of prevention of the disease and development of severe symptoms is vaccination. In Brazil, Fiocruz in partnership with Oxford University and AstraZeneca produces the recombinant AZD-1222 vaccine, which is composed of genetic material encapsulated in a designed virus (recombinant chimpanzee adenovirus) in order to transport that genetic material to host cells, which will express the S protein. The assay for determining the potency of the recombinant COVID-19 vaccine (AZD-1222) is carried out through the infectivity of HEK-293 cells with the recombinant COVID-19 vaccine. To monitor and follow up on the performance of a measurement process, control charts are used. These charts, through statistical calculations, determines the mean and standard deviation in order to establishes control limits. The reference vaccine is analyzed in parallel with the test sample as mandatory assay acceptance criteria. The objective of this work is to elaborate a control chart of the reference vaccine for use in the potency assays of the vaccine against COVID-19, checking through these charts, if the process is within the calculated control limits. The assay is based on an in vitro test through the evaluation of the adenovirus cellular expression effect, quantifying the viral infectivity of the vaccine by liquid chromogen labeling that produces a brown coloration in cultures of human embryonic kidney cells (HEK-293). The control chart was prepared by evaluating 20 (twenty) results included in a trend analysis, through the SPC-PC IV EXPLORER® software, to establish the minimum and maximum control limits. The same were performed by two different analysts and showed satisfactory potency results for both, not observing statistically significant deviations. Furthermore, the potency values were under control, showing fluctuations within the expected limits for a biological product evaluated by a biological assay.

Keywords: Quality Control. Potency assay. Vaccines. COVID-19.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Estrutura do vírus SARS-CoV-2.....	16
<b>Figura 2:</b> Distribuição de casos confirmados de COVID-19 no mundo, até dia 10 de janeiro de 2023.....	18
<b>Figura 3:</b> Distribuição de mortes confirmadas por COVID-19 no mundo, até dia 10 de janeiro de 2023.....	18
<b>Figura 4:</b> Mecanismo de ação da vacina recombinante.....	24
<b>Figura 5:</b> Distribuição do número de casos confirmados de COVID-19 e doses aplicadas de vacinas contra COVID-19 mensalmente no Brasil.....	26
<b>Figura 6:</b> Distribuição do número de mortes confirmadas por COVID-19 e de doses de vacinas aplicadas mensalmente no Brasil.....	27
<b>Figura 7:</b> Porcentagem de doses de vacina contra COVID-19, por produtor, aplicadas no Brasil.....	28
<b>Figura 8:</b> Distribuição de doses totais aplicadas por habitantes.....	29
<b>Figura 9:</b> Ilustração da organização do poço em áreas A, B e C para contagem de células.....	44
<b>Figura 10:</b> Monocamada de células de controle negativo.....	48
<b>Figura 11:</b> Monocamada apresentando células infectadas marcadas por cromógeno .....	49
<b>Figura 12:</b> Gráfico Controle dos resultados de potência do material de referência.....	50
<b>Figura 13:</b> Gráfico Controle de acompanhamento dos resultados de potência do material de referência obtidos nos ensaios.....	51

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>Quadro 1:</b> Intervalo de contagem de células e total de campos por poço de acordo com a lente ocular.....	43
<b>Quadro 2:</b> Critérios de aceitação do ensaio de infectividade da vacina AZD-1222..	45
<b>Tabela 1 :</b> Valores de potência encontrados no Material de Referência analisado durante o estabelecimento dos limites de controle.....	47
<b>Tabela 2:</b> Valores de potência encontrados no Material de Referência analisados durante o acompanhamento.....	48
<b>Tabela 3:</b> Limites estabelecidos pelo SPC-PC IV EXPLORER.....	50



## LISTA DE SIGLAS

Anvisa – Agência Nacional de Vigilância Sanitária  
BPDA – Boas Práticas de Distribuição e/ou Armazenagem  
BPF – Boas Práticas de Fabricação  
BSA – Albumina sérica bovina  
CC – Cultura de células  
ChAd – Adenovírus recombinante de chimpanzés  
CO<sup>2</sup> – Dióxido de Carbono  
COVID-19 – Coronavirus Disease 2019  
DAB – Substrato Histoquímico Para Peroxidase De Rábano Silvestre  
DI – Departamento de Imunologia  
DICC50 – Dose infectante de 50% da cultura celular  
DMEM – Meio Dulbecco's modificado com sais de Eagle  
DP – Desvio-Padrão  
E – Proteína do Envelope  
ECA2 – Enzima Conversora de Angiotensina II  
ECACC – The European Collection of Authenticated Cell Cultures  
Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz  
HEK 293 – Célula de rim embrionário humano  
HRP – Anticorpo Secundário de Camundongo Conjugado a Peroxidase  
ifu – Unidade infecciosa  
Ig – Imunoglobulina  
IgG – Imunoglobulina G  
IgM – Imunoglobulina M  
INCQS – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde  
kb – quilo pares de base (do inglês: kilobase)  
LCL – Limite Inferior de Controle  
LT – Lotes de células de trabalho  
LVVBCC – Laboratório de Vacinas Virais, Biofármacos e Cultura de Células  
LWL – Limite inferior de alerta  
M – Proteína de Membrana  
MERS – Síndrome Respiratória do Oriente Médio (do inglês: Middle East Respiratory)

MERS-Cov – Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (do inglês: Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus)

mL – Mililitro

MR – Material de referência

mRNA – RNA mensageiro

MS – Ministério da Saúde

N – Proteína do Nucleocapsídeo

nm - Nanômetro

NAATs – Testes de Amplificação de Ácidos Nucléicos

OMS – Organização Mundial da Saúde

P/S – Penicilina e estreptomicina

PBS – Phosphate buffered saline

PCL – Média

PNI – Programa Nacional de Imunizações

POP – Procedimento operacional padronizado

PU – Procedimento de Uso

qPCR - Real Time Quantitative PCR

RDC – Resolução da Diretoria Colegiada

RNA – Ácido Ribonucleico

RPM – Rotações por minuto

RT-PCR – Reação em Cadeia da Polimerase de Transcrição Reversa

S – Proteína *Spike*

SARS – Síndrome Respiratória Aguda Grave

SARS-CoV – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (do inglês: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus)

SARS-CoV-2 – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (do inglês: Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2)

SPC – Statistical Process Control

TMPRSS2 – Serina Protease Transmembrana do tipo 2

UCL – Limite Superior de Controle

UWL- Limite superior de alerta

VOC – Variante de Preocupação

VOI – Variante de Interesse

µL – Microlitro

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>1.1</b>	<b>COVID-19</b> .....	15
1.1.2	Estrutura do SARS-CoV-2.....	16
1.1.3	Epidemiologia.....	17
1.1.4	Sintomatologia da COVID-19.....	19
1.1.5	Transmissão.....	20
1.1.6	Diagnóstico.....	21
<b>1.2</b>	<b>Vacinas</b> .....	21
1.2.1	Vacinas contra COVID-19 no Brasil .....	21
1.2.2	Plataformas Tecnológicas Das Vacinas .....	22
1.2.3	Vacina COVID-19 AZD-1222.....	23
1.2.4	Cobertura vacinal e seu impacto na população.....	25
<b>1.3</b>	<b>Programa Nacional de Imunizações</b> .....	30
1.3.1	Controle da qualidade de vacinas.....	31
1.3.2	Papel do INCQS no controle da qualidade das vacinas.....	31
<b>1.4</b>	<b>Ensaio de potência</b> .....	32
<b>1.5</b>	<b>Gráfico de controle</b> .....	33
<b>2.</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	35
<b>3.</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	36
3.1	Objetivo Geral.....	36
3.2	Objetivos Específicos.....	36
<b>4.</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	37
4.1	Amostras da vacina candidata à material de referência.....	37
4.2	Cultura de células.....	37
4.2.1	Manutenção da linhagem HEK-293.....	37
4.2.2	Preparo e fornecimento da suspensão celular.....	38
4.2.3	Preparo do meio de diluição da vacina.....	39
4.3	Revestimento das placas com Poli D-Lisina.....	39
4.4	Plaqueamento de células.....	40
4.5	Preparação da diluição seriada em megaplaca.....	40
4.6	Infecção das células.....	41
4.7	Fixação das células.....	41

<b>4.8</b>	<b>Imunocoloração</b> .....	<b>41</b>
<b>4.9</b>	<b>Leitura da placa</b> .....	<b>42</b>
<b>4.10</b>	<b>Análise dos resultados</b> .....	<b>44</b>
<b>4.11</b>	<b>Crterios de aceitao do ensaio</b> .....	<b>44</b>
<b>4.12</b>	<b>Construo do grfico controle pelo software SPC-PC IV EXPLORER (Statistical Process Control)</b> .....	<b>46</b>
<b>5.</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>47</b>
<b>5.1</b>	<b>Ensaio de potncia</b> .....	<b>47</b>
<b>5.2</b>	<b>Construo do grfico controle</b> .....	<b>49</b>
<b>5.3</b>	<b>Controle estatstico e acompanhamento do processo utilizando grfico controle</b> .....	<b>51</b>
<b>6.</b>	<b>DISCUSSO</b> .....	<b>52</b>
<b>7.</b>	<b>CONCLUSOES</b> .....	<b>54</b>
<b>8.</b>	<b>PERSPECTIVAS</b> .....	<b>55</b>
	<b>REFERNCIAS</b> .....	<b>56</b>

## 1.INTRODUÇÃO

### 1.1 COVID-19

A COVID-19 é uma doença infecciosa, altamente contagiosa, causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2, SARS-CoV-2, cujos primeiros casos foram descobertos na cidade de Wuhan, China, em dezembro de 2019 (MURHEKAR *et al.*, 2021). Desde então, se espalhou globalmente, onde mais de 200 países tiveram relatos de casos da doença, e em março de 2020 sua distribuição foi declarada como pandemia pela Organização Mundial da Saúde (OMS) (OMS, 2020a).

O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de fita simples de sentido positivo, envelopado e genoma de aproximadamente 30kb, pertencente à família *Coronaviridae*, conhecida por conter cepas virais que causam doenças em animais e humanos variando de gravidade moderada a fatal (MOHAMMADPOUR *et al.*, 2021). Nos últimos 20 anos o mundo testemunhou três surtos de coronavírus: SARS (síndrome respiratória aguda grave, em 2003), MERS (síndrome respiratória do Oriente Médio, em 2012) e agora COVID-19, em 2019 (KASUGA *et al.*, 2021). Devido à recombinação genética homóloga causada pela alta transmissão e persistência do vírus circulando na população, uma diversidade genética é observada com o surgimento de cepas variantes do SARS-CoV-2, o que representa um risco maior para a saúde pública global (CAO *et al.*, 2022)

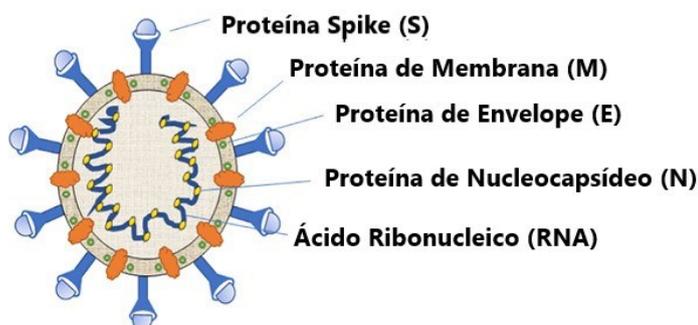
De janeiro de 2020 até o presente, estima-se que existam mais de 1.000 variantes identificadas do SARS-CoV-2 (OMS, 2023). Monitoradas e rastreadas pela OMS, as variantes são catalogadas em duas categorias: Variantes de Interesse (*Variants of Interest – VOIs*) e Variantes de Preocupação (*Variants of Concern – VOCs*) e são avaliadas com base no risco representado à saúde pública global. As variantes de interesse estão associadas às alterações genéticas que podem afetar a capacidade de transmissão viral, gravidade da doença, virulência e escape imunológico do vírus. Já as variantes de preocupação estão associadas a importantes alterações no risco à saúde pública global, pois, são variantes que adquirem mutações que permite vantagens sobre as variantes anteriores, por possuírem maior capacidade de transmissão, aumento da virulência e a escape imune às vacinas e terapias disponíveis (OMS, 2022).

A variante Ômicron é atualmente a VOC responsável por mais de 98% dos casos de COVID-19 no mundo, circulando globalmente desde novembro de 2021 já originou mais de 200 tipos de sub variantes levando á adição de uma nova categoria ao sistema de rastreio das variantes, a denominada "sub variantes Ômicron sob monitoramento" (OMS, 2023). O monitoramento das novas variantes é de extrema importância para atualização das vacinas disponibilizadas à população, dessa forma as doses de reforço têm sido recomendadas para manter os níveis de anticorpos elevados nos vacinados, protegendo assim contra as cepas já conhecidas e as novas sub variantes encontradas (MORENS; TAUBENBERGER; FAUCI, 2022).

### 1.1.2 Estrutura do SARS-CoV-2

A estrutura viral do SARS-CoV-2 é constituída pelo material genético viral envelopado e possui quatro proteínas estruturais principais, o que confere à partícula viral um formato esférico espiculado (Figura 1), que pode medir entre 50 e 200 nm (XU *et al.* 2020).

**Figura 1** - Estrutura do vírus SARS-CoV-2.



Fonte: (Adaptado de NAQVI *et al.*, 2020).

A glicoproteína S, também conhecida como proteína *Spike*, forma estruturas denominadas espículas com formato aparente de coroa, e são fundamentais para a interação vírus-hospedeiro. A proteína de Membrana (M) está aderida ao envelope viral e é responsável pela morfologia do vírus, tem como papel central auxiliar na montagem da partícula viral, juntamente com a proteína de Envelope (E), que é responsável também pela liberação das partículas virais (PAWLOS *et al.*, 2021). Por fim, a proteína do Nucleocapsídeo (N) fornece suporte ao nucleocapsídeo e possui a

função de proteger o genoma viral, além de, auxiliar no brotamento viral e nos processos de replicação do RNA viral e formação do RNA mensageiro (mRNA) (CHUNG; THONE; KWON, 2021).

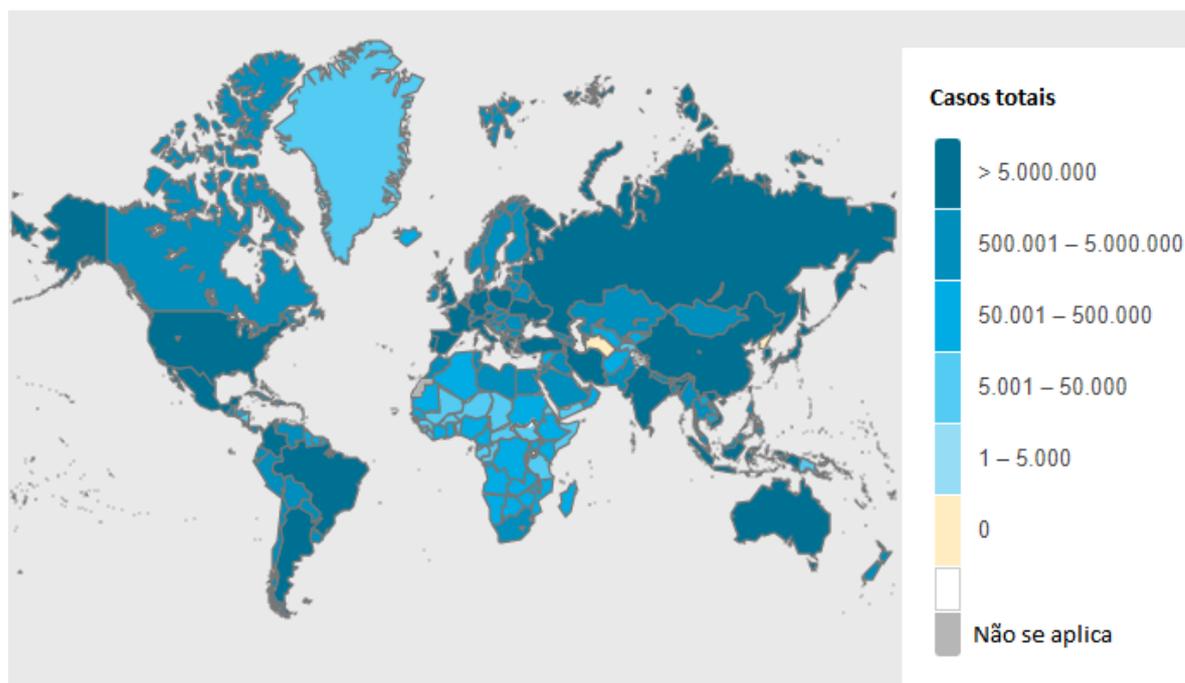
A interação vírus-hospedeiro dá-se, principalmente, pela via de endocitose mediada por receptores. Esse processo é utilizado pelo SARS-CoV-2 para invadir células humanas e é desencadeado quando os domínios de ligação viral ligam-se aos receptores da célula hospedeira (SUNGNAK *et al.*, 2020). Uma das principais rotas endocíticas do SARS-CoV-2 é via receptores da enzima conversora de angiotensina II (ECA2), que se liga à proteína *Spike* do vírus (PAWLOS *et al.*, 2021).

O processo de fusão da partícula viral do SARS-CoV-2 às células hospedeiras é mediado por proteases celulares, em especial pela serina protease transmembrana tipo 2 (TMPRSS2) presente na membrana das células hospedeiras, que são capazes de ativar a proteína *Spike* por meio da clivagem de sítios específicos. Após a ativação, um peptídeo de fusão, localizado na porção N-terminal da subunidade S2 da proteína S, insere-se na membrana plasmática e proporciona a fusão da partícula viral com a membrana da célula (JACKSON *et al.*, 2022).

### 1.1.3 Epidemiologia

A epidemia de SARS-CoV-2 modificou todo o cenário mundial em seus diversos aspectos, como o da saúde, social e econômico. O elevado número de infectados sobrecarregou os sistemas da saúde, interrompeu abruptamente o contato social, em virtude das políticas de controle epidemiológico (em especial o *lockdown*) e desencadeou uma grande crise econômica global. De acordo com relatório da OMS, até 10 de janeiro de 2023, foram mais de 660 milhões de casos confirmados (Figura 2) e mais de 6 milhões de mortes por COVID-19 (Figura 3) no mundo (OMS, 2023a).

**Figura 2** - Distribuição de casos confirmados de COVID-19 no mundo, até dia 10 de janeiro de 2023.



Fonte: (Adaptado de OMS, 2023a).

**Figura 3** - Distribuição de mortes confirmadas por COVID-19 no mundo, até dia 10 de janeiro de 2023.



Fonte: (Adaptado de OMS, 2023a).

Segundo a OMS, o Brasil ocupa o quinto lugar em número de casos confirmados de COVID-19, atrás apenas dos países: Estados Unidos, que lidera o ranking de mortes e infectados, seguido pelos países, Índia, França e Alemanha (OMS, 2023a). O primeiro caso confirmado de infecção de SARS-CoV-2 no Brasil, ocorreu em 26 de fevereiro de 2020, em um paciente que retornava da Itália e desde então o país já contabilizou mais de 36 milhões de casos (GIOVANETTI *et al.*, 2022).

A primeira morte no Brasil foi registrada em 17 de março de 2020. Quatro dias depois, todos os estados brasileiros já possuíam pelo menos um caso confirmado de COVID-19 e o Ministério da Saúde do Brasil declarou um surto de transmissão comunitária em larga escala do vírus (GIOVANETTI *et al.*, 2022). Atualmente, o Brasil é o segundo país com o maior número de óbitos registrados por COVID-19, ficando atrás apenas dos Estados Unidos (OMS, 2023a).

#### 1.1.4 Sintomatologia da COVID-19

As manifestações clínicas da COVID-19 não são específicas, porém, são semelhantes a quadros de síndrome gripal que podem variar de doença leve a muito grave e até fulminante. As manifestações mais comuns são: tosse, febre, dor de garganta, dor de cabeça, mialgia, anosmia, disgeusia, rinorreia. Sintomas gastrointestinais como náuseas, diarreia e dor abdominal também são relatados (GANESH *et al.*, 2021). Em casos graves o trato respiratório é mais afetado, o que pode ocasionar sintomas de dispneia e quadros de pneumonia. Já o estágio crítico é caracterizado pelo acometimento sistêmico, a insuficiência respiratória grave resulta em hipóxia sistêmica grave e desencadeia uma série de complicações: como arritmias, insuficiência cardíaca, coagulopatias, falência múltipla de órgãos e pode levar à morte (SALIAN *et al.*, 2021).

Os pacientes classificados como grupos de risco possuem um ou mais fatores de comorbidade. Múltiplos fatores estão associados ao mau prognóstico da doença, entre os quais destacam-se: indivíduos com mais de 60 anos; tabagismo; diabetes; doença cardiovascular; hipertensão; indivíduos imunodeprimidos, como transplantados e pacientes com câncer (GANESH *et al.*, 2021; WU *et al.*, 2020).

Estudos relatam que uma parcela substancial dos pacientes recuperados da COVID-19 aguda continuam a apresentar sintomas físicos e psicológicos por até 6 meses após a infecção, em alguns casos a persistência de sintomas pode chegar até mesmo aos 12 meses (BALLERING *et al.*,2022; HAN *et al.*,2022). Os sintomas residuais mais comuns após a infecção incluem fadiga (28%), dispneia (18%), artromialgia (26%), depressão (23%), ansiedade (22%), perda de memória (19%), dificuldade de concentração (18%), insônia (12%), anosmia/perda do olfato/distúrbio do olfato (6%) e ageusia/perda do paladar/distúrbio do paladar (4%) (HAN *et al.*, 2022).

### 1.1.5 Transmissão

O SARS-CoV-2 é capaz de infectar indivíduos de qualquer faixa etária e pode ser transmitido por contato direto com um indivíduo infectado ou por contato indireto com gotículas respiratórias contaminadas presentes em ambientes. O período médio de incubação do vírus é de 3 dias, podendo variar entre 2 a 14 dias (OMS, 2020). Durante esse intervalo o indivíduo pode apresentar sintomas ou ser assintomático, o que gera uma grande preocupação, pois uma parcela significativa de casos de COVID-19 são de pacientes assintomáticos ou com sintomas leves inespecíficos (HU; HE; ZHANG, 2021).

A infecção direta por SARS-CoV-2 acontece com o contato próximo (< 2 metros) entre indivíduos, onde gotículas contaminadas são expelidas pelo indivíduo contaminado por meio de tosses, espirros ou fala e entram em contato com mucosas suscetíveis, como boca, nariz ou olhos do indivíduo saudável (KARIA *et al.*, 2020). É descrita como a via principal de contaminação, responsável pela maior parte dos casos de transmissão. Já a transmissão indireta ocorre quando um indivíduo entra em contato com gotículas ou secreções contaminadas presentes em superfícies do ambiente circundante. Embora não seja alto, o risco de transmissão por meios diferentes do trato respiratório é possível, foi observado que mulheres grávidas infectadas pelo vírus causador de COVID-19 podem infectar bebês por meio da transmissão vertical intra uterina, além disso, foi detectada a presença de partículas virais infectantes em amostras de urina e fezes de pacientes contaminados (KHAN *et al.*, 2021).

### 1.1.6 Diagnóstico

A apresentação clínica juntamente com os achados laboratoriais, exames de radiologia e o histórico de exposição devem levantar suspeita de infecção por SARS-CoV-2. No entanto, o diagnóstico preciso deve ser feito utilizando exames de detecção viral em amostras clínicas do trato respiratório. A presença de SARS-CoV-2 pode ser confirmada por meio da pesquisa de antígeno ou ácido nucleico, com testes rápidos e/ou teste laboratorial baseado em reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa (RT-PCR). Os testes rápidos chegaram como uma alternativa ao alto custo e à grande demanda de testes de amplificação de ácidos nucleicos, com a proposta de ter um resultado em até 15 minutos e ser possível de ser feito em casa pelo próprio paciente, tornaram-se a ferramenta que facilitou o diagnóstico precoce e, dentre outros benefícios, contribuíram para prevenção da transmissão do vírus (GANESH *et al.*, 2022; SALIAN *et al.*, 2021).

Os testes sorológicos de detecção de anticorpos, que medem a presença de imunoglobulinas (Ig) IgG (infecção passada) e IgM (infecção atual/recente), também podem ser realizados por meio de testes de detecção rápida e são recomendados principalmente para atividade de vigilância e monitoramento (OMS, 2020b; UDUGAMA *et al.*, 2020).

## **1.2 Vacinas**

### **1.2.1 Vacinas contra COVID-19 no Brasil**

A vacinação contra a COVID-19 é a intervenção mais eficaz para mitigar o avanço da pandemia visto que limita o desenvolvimento de novas variantes do SARS-CoV-2 e garante imunidade para as cepas já descobertas (OMS, 2022). Diversos países e empresas farmacêuticas trabalharam em conjunto para conter os impactos da pandemia mediante a produção de vacinas seguras e eficazes contra COVID-19, assim como, realizaram o monitoramento das vacinas disponibilizadas para uso emergencial e registradas nos países (OMS, 2022).

No Brasil o planejamento da vacinação nacional é orientado com base na Lei n.º 12.401, de 28 de abril de 2011, que dispõe sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologia em saúde no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS) e

Lei n.º 6.360/1976 e normas sanitárias brasileiras, conforme RDC n.º 55/2010, RDC n.º 348/2020 e RDC n.º 415/2020 que responsabiliza a Anvisa pela avaliação de registros e licenciamento de todas as vacinas disponibilizadas no país (BRASIL, 1976a; BRASIL, 2010; BRASIL, 2011; BRASIL, 2020; BRASIL, 2020a; BRASIL, 2020b).

No dia 17 janeiro de 2021 a Anvisa autorizou para uso emergencial as vacinas Coronavac (Sinovac) e AstraZeneca AZD1222 (Oxford/Astrazeneca/Serum Institute of India/Bio-Manguinhos), e no dia 18 de janeiro teve início a Campanha Nacional de Vacinação contra a Covid-19 no Brasil tendo os trabalhadores da saúde, população indígena e os idosos como grupos prioritários. Já em fevereiro de 2021 a Anvisa concedeu o registro definitivo da vacina COMIRNATY® (Pfizer/Wyeth) no país, e no dia 12 de março de 2021 foi aprovado o registro definitivo da vacina AstraZeneca AZD1222 (Oxford/Astrazeneca/Serum Institute of India/Bio-Manguinhos). Posteriormente, a quarta vacina contra COVID-19 foi autorizada para uso no país, a vacina Janssen foi autorizada para uso emergencial em março de 2021 e em abril de 2022 obteve a aprovação do registro definitivo (ANVISA, 2022).

### 1.2.2 Plataformas Tecnológicas Das Vacinas

Na corrida pela produção de uma vacina segura e eficaz contra a COVID-19, as fabricantes farmacêuticas utilizaram diferentes plataformas tecnológicas no desenvolvimento das vacinas, e embora algumas tecnologias sejam novas, todas mostraram-se promissoras (SHARMA *et al.*, 2020).

A seguir são descritas as principais plataformas tecnológicas utilizadas para o desenvolvimento das vacinas disponibilizadas no Brasil:

a) Vacinas de vírus inativados – Conhecida por ser uma tecnologia clássica de produção, as vacinas de vírus inativados estão disponíveis no mundo há quase 70 anos, desde a criação do primeiro imunizante feito com essa plataforma, a vacina contra poliomielite. A vacina inativada é constituída por vírus cultivados em culturas de células, que posteriormente são inativados por procedimentos físicos (irradiação, calor) ou substâncias químicas, tornando-se assim, uma vacina segura dado que, os vírus inativados perdem a capacidade de replicação. A produção da vacina Coronavac (Sinovac) se fundamenta nessa tecnologia (MOURA *et al.*, 2021).

b) Vacinas de RNA mensageiro (mRNA) – Composta por nanopartículas lipídicas transportadoras do segmento do RNA mensageiro do vírus que contém instruções para a produção da proteína antigênica (proteína *Spike*), que será capaz de estimular a resposta imune específica. Uma modalidade inovadora e promissora da indústria de vacinas que permite a produção rápida de grandes volumes de vacina, assim como, fornece uma vacina segura não infecciosa, incapaz de se integrar ao material genético humano. A produção da vacina Comirnaty (Pfizer) se fundamenta nessa tecnologia (MOURA *et al.*,2021).

c) Vacinas de vetores virais – Vacinas produzidas a partir de vírus humanos ou de outros animais, que podem ser replicantes ou não, e atuam como vetores de genes que codificam a produção de proteínas antigênicas. No caso da vacina contra COVID-19 a proteína selecionada para gerar uma resposta imunológica é a proteína *Spike(S)* do SARS-CoV-2. O vírus recombinante modificado de forma a ser inapto a causar doenças, opera como condutor do material genético do antígeno capaz de estimular uma resposta imune. A produção das vacinas dos fabricantes Oxford/Astrazeneca/Serum Institute of Índias/Bio-Manguinhos e Janssen se fundamentam nessa tecnologia, portanto, a vacina contra COVID-19 AZD1222 é produzida utilizando essa plataforma (MOURA *et al.*,2021).

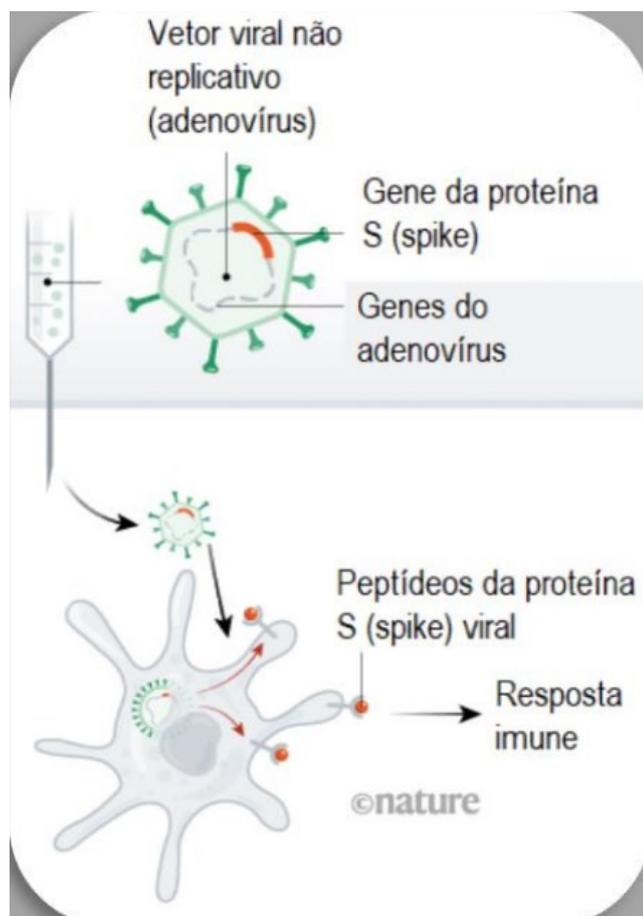
### 1.2.3 Vacina COVID-19 AZD-1222

A vacina AZD1222 contra a COVID-19, desenvolvida pela AstraZeneca em parceria com a Universidade de Oxford, e posteriormente produzida por Bio-Manguinhos/Fiocruz, foi uma das primeiras vacinas disponíveis para comercialização. Em virtude de testes já realizados em uma vacina similar contra o coronavírus causador da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) em 2019, os resultados de segurança e a eficácia testadas auxiliaram de forma expressiva o avanço e rapidez das pesquisas clínicas relacionadas a vacinas virais recombinantes (LI *et al.*, 2020).

A vacina é composta por vetor de adenovírus recombinante de chimpanzé, deficiente para replicação (ChAdOx1), que expressa a glicoproteína SARS-CoV-2 *spike(S)*. Produzido em células renais embrionárias humanas (HEK) 293 geneticamente modificadas. A proteína *Spike(S)* expressa é reconhecida pelas células

e desencadeia uma resposta imune específica, provocando assim, a geração de anticorpos e células T contra a SARS-CoV-2 (Figura 4) (GRIFONI *et al.*, 2020).

**Figura 4** - Mecanismo de ação da vacina recombinante.



Fonte: (Adaptado de Nature, 2020).

Sua administração é indicada somente para maiores de 18 anos, possui esquema vacinal primário de duas doses de 0,5 ml cada com intervalo entre 4 e 12 semanas após a primeira dose, com exceção dos indivíduos imunocomprometidos, em que o esquema vacinal primário é composto por três doses da vacina (OMS, 2022).

Possui permissão para ser aplicada como dose de reforço, que tem como objetivo restaurar a eficácia da vacina e deve ser administrada entre 4 e 6 meses após completar o esquema vacinal primário. As doses de reforço são administradas à população vacinada que completou a série primária quando, ao longo do tempo, a imunidade e a proteção clínica ficam abaixo do nível considerado suficiente para aquela população (OMS, 2022).

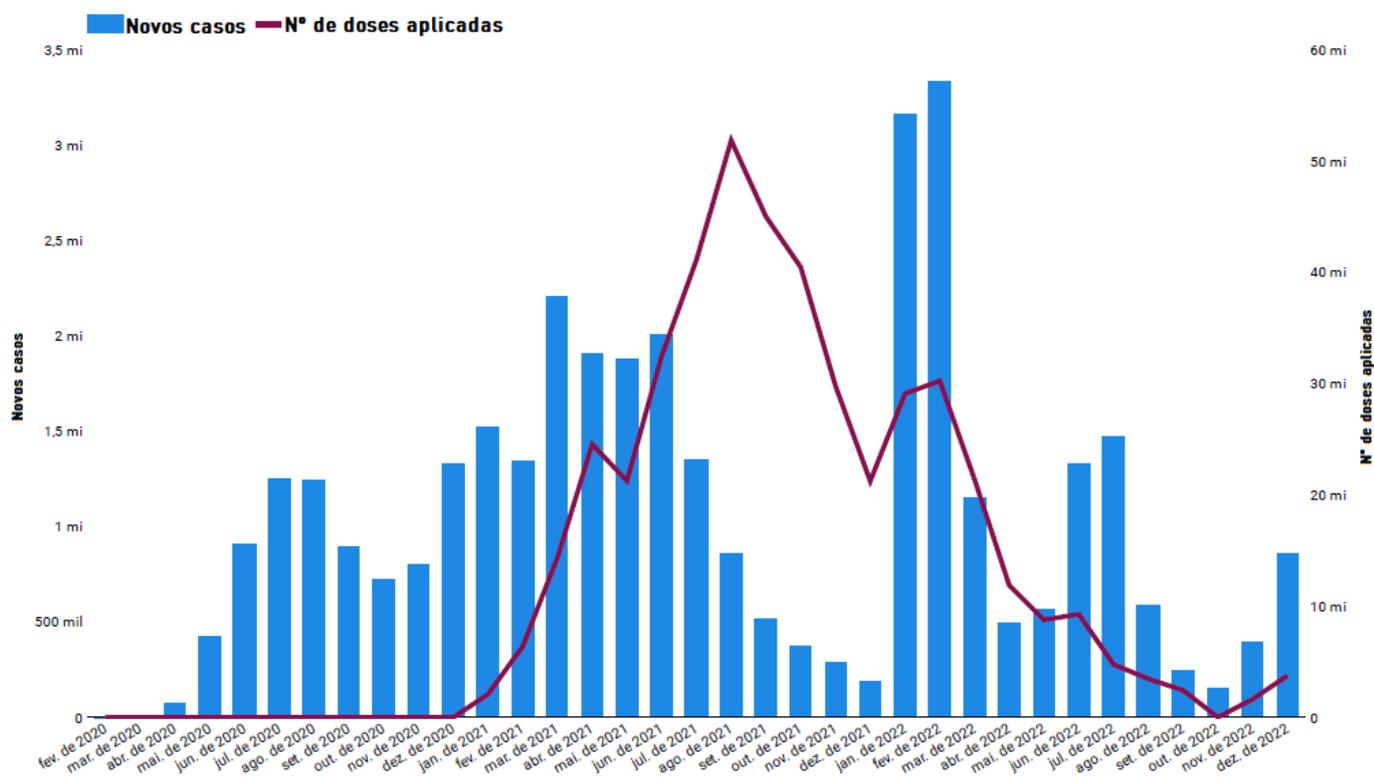
Em caso de gravidez, hipersensibilidade a qualquer componente da vacina, distúrbios de coagulação, trombose venosa e/ou arterial, ou Síndrome de Extravasamento Capilar é contraindicada a administração da vacina AZD-1222 (EMARY *et al*, 2021).

Estudos realizados em diversos países apontam eficácia de 73% pelos três primeiros meses após a vacinação, alcançando maior eficácia quando fornecida com intervalo de 12 semanas entre a primeira e a segunda dose, constatando assim, que a produção de anticorpos é significativamente maior na população com maior intervalo entre doses (OMS, 2022). Resultados preliminares de um estudo, apontam que a terceira dose da vacina AZD-1222 aumenta significativamente os níveis de anticorpos neutralizantes contra a variante Ômicron (ZHOU *et al.*, 2021).

#### 1.2.4 Cobertura vacinal e seu impacto na população

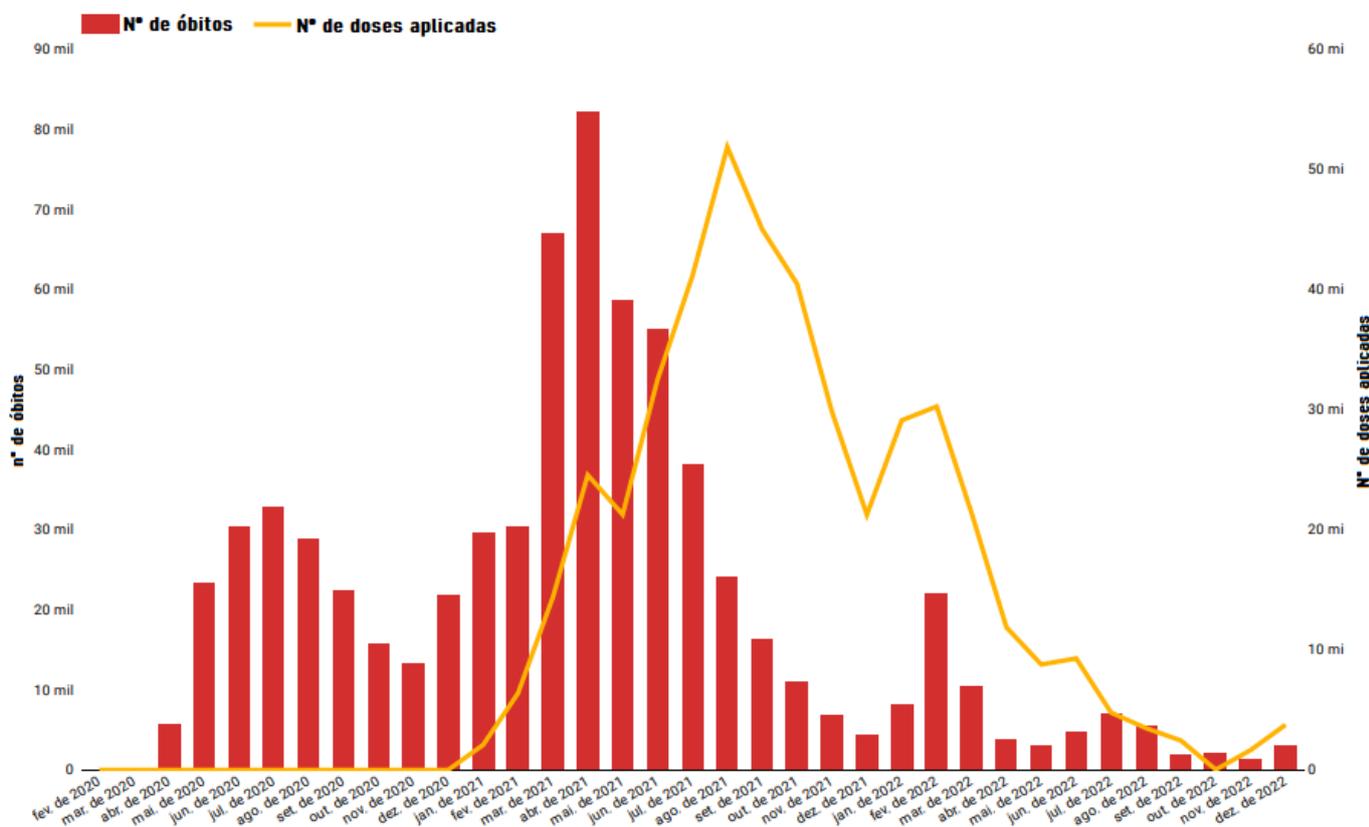
A vacinação contra COVID-19 no Brasil, junto das medidas preventivas, tem sido uma estratégia efetiva de mitigação da pandemia. A campanha nacional de vacinação contra COVID-19 iniciou em janeiro de 2021 de forma lenta e progressiva, por consequência da falta de imunizantes e acomodação do início da vacinação (BRANDÃO; CRISTALDO, 2021). Contudo, o início e avanço da vacinação da população contra COVID-19, ocasionou uma queda acentuada no número de casos confirmados no ano de 2021 (Figura 5) e, principalmente, no número de mortes por COVID-19 (Figura 6).

**Figura 5** - Distribuição do número de casos confirmados de COVID-19 e doses aplicadas de vacinas contra COVID-19 mensalmente no Brasil.



Fonte: Our World in Data

**Figura 6** - Distribuição do número de mortes confirmadas por COVID-19 e de doses de vacinas aplicadas mensalmente no Brasil.



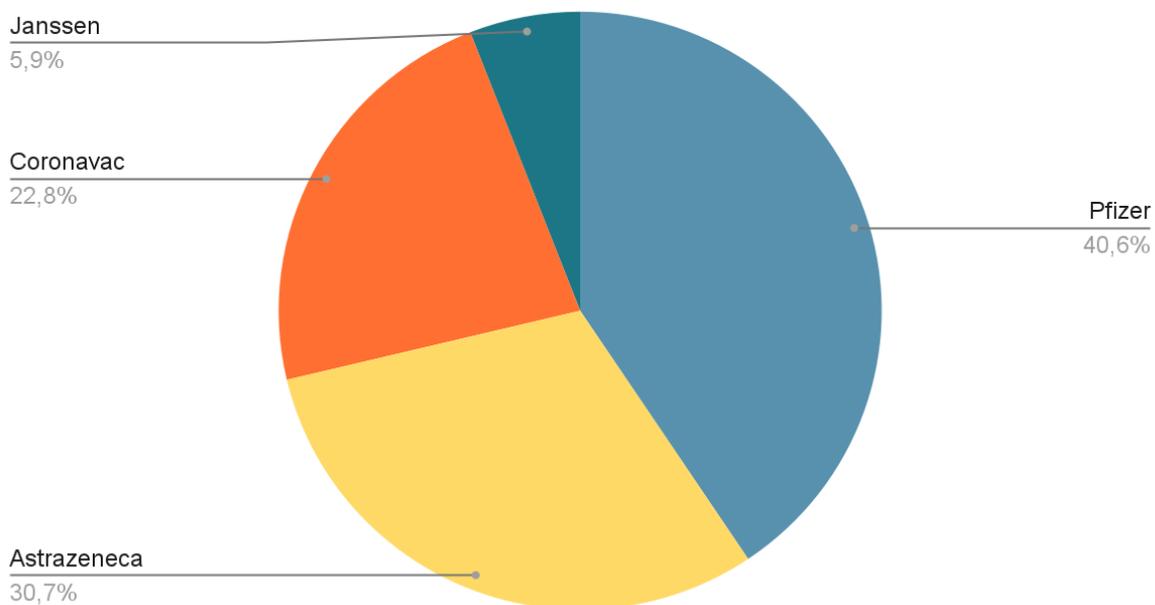
Fonte: Our World in Data

O surgimento de variantes do SARS-CoV-2 limitou o sucesso das vacinas e da imunidade natural, como no início do ano de 2021, onde se observa (Figura 5) um pico de casos ocasionado pela variante Gama, e o pico de casos no início do ano 2022, causado pelo surgimento da variante Ômicron (ZHOU *et al.*, 2021).

Atualmente, a OMS estima que cerca de 87% da população brasileira está imunizada com pelo menos uma dose da vacina e 79% está com o esquema vacinal completo. De acordo com a OMS, até o dia 03 de dezembro de 2022, o total de doses administradas no país já ultrapassou o número de 490 milhões de aplicações (OMS, 2023). O Ministério da Saúde estima que cerca de 30% das doses aplicadas no Brasil tenham sido da vacina AZD-1222, produzida pela Universidade de Oxford/AstraZeneca e Bio-Manguinhos/Fiocruz (Figura 7) (BRASIL, 2022a).

**Figura 7** - Porcentagem de doses de vacina contra COVID-19, por produtor, aplicadas no Brasil, até dezembro de 2022.

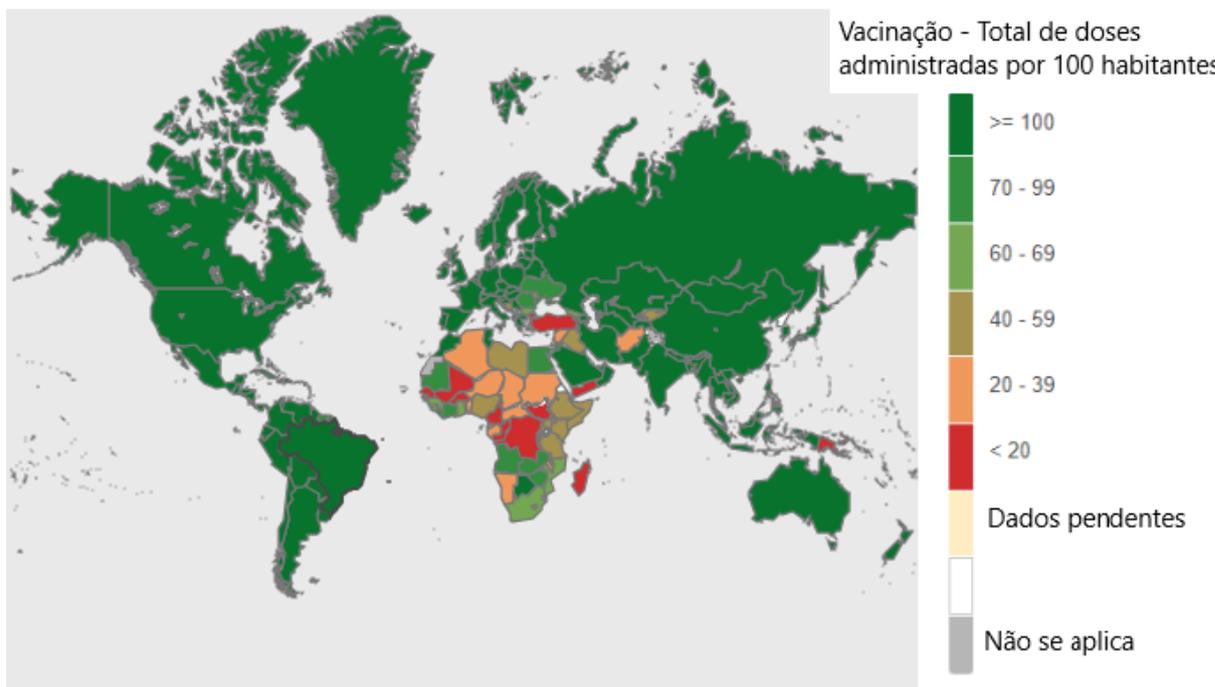
### Doses aplicadas por produtor



Fonte: (BRASIL, 2022a).

O Brasil ocupa o quarto lugar no ranking mundial na aplicação de doses de vacinas, ficando atrás apenas da China (3,4 bilhões de vacinas), Índia (2,2 bilhões de vacinas) e Estados Unidos (666 milhões de vacinas) (Figura 8) (OMS, 2023).

**Figura 8** - Distribuição de doses totais aplicadas por habitantes, até dezembro de 2022.



Fonte: (Adaptado de OMS, 2022).

Dados indicam que a campanha de vacinação contribuiu para a queda de mortes por COVID-19 na população idosa a partir de abril de 2021 (DOLBERTH; DEL SENT; SCHMIDT, 2022). No entanto, apesar do início da imunização no Brasil o número de mortes diárias por COVID-19 permaneceu aumentando (VICTORA *et al.*, 2021). O impacto da vacinação na diminuição do número de mortes diárias na população geral se deu somente 81 dias após o início da campanha, isso se deve a disponibilização de doses insuficiente e gradativa para a população, provocada pela discrepância entre o fornecimento e demanda de vacinas contra COVID-19 (ARAUJO; FERNANDES, 2022).

Outro fator que dificultou o avanço da vacinação no Brasil foi a descrença sobre a eficácia das vacinas contra COVID-19 e a onda de desconfiança na ciência que emergiu em alguns países, movimentos antivacina e negacionistas enfraqueceram a campanha de vacinação no Brasil (HALLAL, 2021).

Embora a vacinação contra COVID-19 tenha iniciado no Brasil em 18 de janeiro de 2021, a soma desses fatores gerou um cenário de distorção social atrelado à diminuição da confiança inerente à capacidade de imunização das vacinas e

popularizou o uso de tratamentos precoces sem eficácia comprovada contra COVID-19 (FURLAN; CARAMELLI, 2021). A falta de campanhas nacionais de apoio à vacinação e informações corretas sobre a segurança da vacina influenciou a hesitação da população sobre as vacinas e dificultou a cobertura vacinal.

### **1.3 Programa Nacional de Imunizações - PNI**

Em 1973, por determinação do Ministério da Saúde, foi elaborado o Programa Nacional de Imunizações - PNI, legitimado pela Lei 6.259, de 30 de outubro de 1975, e regulamentada pelo Decreto 78.231, de 12 de agosto de 1976 (BRASIL, 1976). O PNI possibilitou a coordenação da política nacional de vacinação da população brasileira, de forma fundamental para assegurar a uniformidade do calendário vacinal, introdução de novas vacinas importantes, padronização técnica de manejo e aplicação dos imunobiológicos, e permitiu a elaboração de estratégias de campanhas de vacinação que tiveram grande relevância no controle de doenças e eliminação da poliomielite, uma grande conquista do programa (SILVA JUNIOR, 2013).

Atualmente, o PNI garante, de forma gratuita, a oferta à população 45 vacinas diferentes disponíveis para proteger doenças como poliomielite, sarampo, rubéola, caxumba, entre outras (BRASIL, 2022). Além disso, o programa assegura que as vacinas ofertadas sejam seguras e eficazes para todos os grupos populacionais que são alvo de ações de imunização, como crianças, adolescentes, adultos, idosos e indígenas (DOMINGUES *et al.*, 2020; SILVA JUNIOR, 2013). Todos os lotes de imunobiológico são submetidos à análise no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS), órgão responsável pelo controle da qualidade desses produtos no Brasil, principalmente, de vacinas distribuídas pelo PNI e pela liberação de lotes (BRASIL, 2008).

O PNI celebra uma história, de quase meia década, repleta de conquistas que renderam reconhecimento e respeitabilidade da sociedade brasileira e internacional se tornando assim, um programa de Saúde Pública de referência (DOMINGUES *et al.*, 2013).

### 1.3.1 Controle da qualidade de vacinas

Um grande desafio na produção de vacinas é o estabelecimento de padrões de qualidade quanto à eficácia e segurança dos imunobiológicos, sendo responsabilidade dos produtores o cumprimento desses critérios. O Ministério da Saúde, em consonância com suas atribuições, fiscaliza desde 1973 o controle da qualidade dos imunobiológicos disponíveis no país (PONTE, 2003).

O controle da qualidade na fabricação de vacinas é fundamentado no controle de processos de produção, matérias-primas e produto final. Os testes são determinados com base no perfil ideal da vacina para atender às necessidades do paciente e fornecer o mais alto nível de proteção (CARVALHO, 2014).

A verificação do controle da qualidade é empregada em diversas etapas da produção da vacina, nas etapas de expansão celular para inoculação do antígeno, no isolamento do antígeno, nas etapas de purificação do *Bulk* (Produto a Granel), e no produto final antes da comercialização, com o objetivo de atestar a segurança e eficácia de acordo com as especificações do produto (LUSKY, 2005; GOMEZ; ROBINSON; ROGALEWICZ, 2013). Além disso, deve-se cumprir as determinações impostas pela Anvisa, definidas pela RDC n° 301/2019 e RDC n° 497/2021, que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação e condiciona a existência de parecer técnico que ateste que o fabricante atende aos requisitos técnicos de Boas Práticas de Fabricação (BPF) ou Boas Práticas de Distribuição e/ou Armazenagem (BPDA) necessários à comercialização do produto (BRASIL, 2019; BRASIL, 2021).

### 1.3.2 Papel do INCQS no controle da qualidade das vacinas

Segundo a RDC n° 73/2008, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para procedimento de liberação de lotes de vacinas para consumo no Brasil, com objetivo de promover o controle da qualidade dos imunobiológicos adquiridos pelo mercado privado e pelo Programa Nacional de Imunizações (PNI), a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) delega ao Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz (INCQS/Fiocruz) a responsabilidade pela liberação de todos os lotes de vacinas utilizadas no país (CARVALHO, 2014; BRASIL, 2008; NETTO, 2010).

Os lotes de vacinas fornecidos pelos produtores são submetidos à análise documental e/ou laboratorial no INCQS/Fiocruz, onde se avaliam indicadores da eficácia do produto (ensaios de identidade, estabilidade e potência) e da segurança (testes de esterilidade, toxicidade e pirogênio ou endotoxina bacteriana) (CARVALHO, 2014; NETTO, 2010).

#### 1.4 Ensaios de potência

Requerimentos legais determinam que cada lote de vacina produzido seja avaliado para seu potencial de indução de imunidade protetora pós-administração, essa avaliação é definida por ensaio de potência (MOURA, 2009). O método de avaliação da potência estabelecido pode variar a depender das características de cada vacina, como a modalidade da vacina (subunidade proteica, mRNA, inativada, cepa atenuada ou vetor viral) e o mecanismo de ação (VERCH; TRAUSCH, SHANK-RETZLAFF, 2018).

Além disso, diferentes métodos podem ser utilizados para determinação da potência, tais como, ensaios de propriedades físico-químicas, imunogenicidade, infectividade, antigenicidade e proteção contra infecção ou doença (CARVALHO, 2021).

No contexto da vacina viral recombinante, o ensaio determina o número de partículas infecciosas por mL, podendo ser estabelecido por ensaio de infectividade *in vitro*, como titulação viral por plaque e DICC50, combinadas com outras técnicas de identificação, como qPCR, citometria de fluxo ou imunocoloração (KOBAYASHI, 2022).

O ensaio de potência da vacina recombinante AZD-1222 preconizado pelo produtor, é fundamentado na infectividade das culturas de células frente ao adenovírus presente na vacina. É um método *in vitro* que utiliza células da linhagem HEK-293 (células de rim embrionário humano) e avalia a infectividade da vacina frente à cultura celular, por meio da determinação de unidades infecciosas por células. O resultado do ensaio é analisado frente à média da contagem do número de células infectadas por adenovírus presentes na cultura celular (INCQS, 2022a).

Embora possa ser importante controlar o número de partículas entregues para garantir a segurança, esse valor por si só não é muito informativo, pois apenas os

vírus viáveis contribuem para a potência (VERCH; TRAUSCH, SHANK-RETZLAFF, 2018).

Como controle de precisão e reprodutibilidade, cada ensaio deve incluir um lote de Material de Referência, que possua valor de potência previamente definido, além de possuir limite inferior e superior de controles (ARTE, 2019; DOS SANTOS *et al.*, 2011).

### 1.5 Gráfico de Controle

O gráfico de controle é uma ferramenta aplicada na análise e monitoramento das variações inerentes ao processo produtivo, desenvolvido por Shewhart, o sistema de mensuração dessas variabilidades ficou conhecido como Controle Estatístico de Processo e visa facilitar a identificação das fontes de variabilidade anormal no processo (INCQS, 2018). É constituído do controle, análise e correção das não conformidades (valores fora dos limites de especificação), dessa forma, considera-se que a probabilidade de liberação de um produto defeituoso seja minimizada, pois este gráfico permite a mensuração de quanto o processo pode estar ou não sob controle estatístico (SOKOVIĆ *et al.*, 2009).

O Controle Estatístico de Processo (CEP) é uma estrutura que utiliza ferramentas de resolução de problemas úteis para alcançar a estabilidade do processo através da redução da variabilidade. Começou a ser utilizado nas indústrias de manufatura na década de 1920, mas agora existem aplicações abundantes em cuidados de saúde, ensaios biológicos e epidemiologia (WOODALL, 2006; THOR *et al.*, 2007). A principal ferramenta utilizada no CEP é o gráfico de controle, composto por uma linha central que representa a média das observações do processo, possui também os limites superiores e inferiores de controle, definidos pelo valor da média adicionado de três desvios padrão, que garante um intervalo de confiança de 99,7% (SHEWHART, 1931).

Os gráficos básicos de Shewhart utilizam apenas as informações do processo contido no último ponto plotado e não analisam as informações dadas pela sequência de eventos, e como forma de melhorar a sensibilidade da análise e identificar padrões do processo, testes de desempenho podem ser aplicados ao gráfico. De acordo com

a Western Electric (1956), um sinal fora de controle deve ser produzido sempre que ocorrer pelo menos um dos seguintes eventos:

1. Um ponto fora dos limites de controle;
2. Dois pontos consecutivos além dos limites de alerta ( $\pm 2DP$ );
3. Quatro pontos consecutivos plotados do mesmo lado da linha central;
4. Oito pontos consecutivos plotados em um mesmo lado da linha central.

Na prática de gráficos de controle, duas fases distintas têm sido utilizadas na literatura: Fase I e Fase II (WOODALL, 2000; VINING, 2009). A fase I tem como objetivo identificar se os dados amostrados de um processo estão sob controle ou não. Já na fase II o objetivo básico é testar os dados futuros para especificar se o processo permanece sob controle ou mudou para o estado fora de controle, de forma a avaliar continuamente o processo e suas variações. Sendo assim, o gráfico de controle de Shewhart uma exibição gráfica da qualidade do produto e/ou processo (BERSIMIS;PSARAKIS;PANARETOS, 2007).

Dessa forma, uma observação fora dos limites de controle é interpretada como evidência de que o processo está fora de controle, uma causa atribuível está presente, portanto, se faz necessária uma interferência de melhoria no processo. Diagrama de Ishikawa e Metodologia de Análise e Solução de Problemas (MASP) são algumas das ferramentas e metodologias utilizadas na identificação e solução de problemas e na melhoria contínua (MORAES *et al.*, 2018).

## 2. JUSTIFICATIVA

Apesar da queda acentuada no número de contaminados e óbitos por COVID-19 nos últimos meses no país em decorrência, principalmente, do avanço da vacinação e cobertura vacinal, o comportamento e evolução natural da doença continua sendo um desafio para todo o mundo. Assim, mesmo frente a uma redução, ao menos temporária, no número de casos graves da doença no país, é necessária a manutenção das estratégias de enfrentamento ao vírus, em especial as políticas públicas de fortalecimento dos sistemas de atenção à saúde e de vacinação. De fato, milhares de casos continuam sendo diagnosticados todos os dias ao redor do mundo, potencializando o surgimento de novas variantes capazes de remodelar o cenário epidêmico, e o avanço e manutenção das vacinas segue sendo o principal agente responsável de proteção contra casos graves da doença (MIRI, 2022).

Para que as vacinas cumpram o seu propósito, de forma eficaz e segura, é necessário que um rigoroso processo de produção e controle da qualidade seja realizado. Nesse contexto, o INCQS/Fiocruz é o laboratório responsável pelo controle da qualidade das vacinas distribuídas no Brasil (FERNANDES DE LIMA; RIBEIRO DE MORAIS; OLIVEIRA, 2022). O uso e o acompanhamento de materiais de referência é imprescindível para a harmonização de metodologias entre os laboratórios produtores e o Laboratório de Controle Nacional (INCQS) (OMS, 2006). A utilização de gráficos de controle permite o monitoramento do comportamento do processo e o registro da sua variabilidade (CÉSAR, 2011).

Portanto, a relevância deste trabalho fundamenta-se no fato de que para garantir a qualidade dos resultados da vacina analisada é necessária a elaboração de um gráfico de controle da vacina de referência contra COVID-19, uma vez que o material de referência é analisado em paralelo com a amostra teste. Além disso, o acompanhamento do material de referência é prática essencial para a qualidade dos ensaios analíticos dos imunizantes, a fim de determinar que os resultados obtidos estão dentro de limites pré-estabelecidos em gráfico de controle, critério obrigatório para aceitação dos testes de potência.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo Geral**

Elaborar um gráfico controle do material de referência para utilização nos ensaios de potência da vacina contra COVID-19.

#### **3.2 Objetivos Específicos**

- ❖ Estimar o título da vacina AZD-1222 candidata à referência utilizando ensaios de potência;
- ❖ Estabelecer os limites inferior e superior de controle do material de referência;
- ❖ Realizar o controle sistemático dos resultados da potência do material de referência utilizando o gráfico controle.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 Amostras da vacina candidata à material de referência

As amostras da vacina contra COVID-19 AZD-1222, fabricada por Oxford/AstraZeneca/Bio-Manguinhos e candidata a material de referência, foram armazenadas em alíquotas e mantidas em temperatura entre -30°C e -50°C. Apenas um lote de vacina foi utilizado para a realização dos ensaios de elaboração do gráfico controle. Toda a metodologia foi realizada de acordo com o POP nº 65.3430.049 estabelecido e aprovado pelo INCQS.

### 4.2 Cultura de células

Foram utilizadas culturas de células da linhagem HEK-293 (células embrionárias de rim humano), cuja manutenção e preparo seguem o PU nº 3430.062 (INCQS, 2022) do Setor de Cultura de Células, do Departamento de Imunologia (DI), INCQS. Este procedimento de uso visa padronizar a manutenção e o fornecimento da linhagem HEK-293, oriunda da ATCC (*American Type Culture Collection*), utilizada no DI em ensaios de determinação de infectividade da vacina Oxford/AstraZeneca/Bio-Manguinhos (AZD1222) para COVID-19.

#### 4.2.1 Manutenção da linhagem HEK-293

Os lotes de trabalho (LT) constituem o estoque de células utilizado na rotina de ensaios realizados no INCQS/Fiocruz entre as passagens 2 e 20 após o descongelamento, sendo esta uma obrigatoriedade para a garantia da qualidade dos ensaios.

Para a manutenção celular foram seguidas as recomendações conforme o POP 65.3430.031 que estabelece os procedimentos para a manutenção de cultivos celulares animais e humanos que serão descritos ao longo desta metodologia (INCQS, 2021).

As culturas foram mantidas com o Meio de Dulbecco modificado com sais de Eagle (DMEM)(Gibco) suplementado com 10% de Soro Fetal Bovino (SFB)(Sigma) e 1% de Penicilina e estreptomicina (P/S) (Gibco), em estufa umidificada à temperatura de  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ , com atmosfera de 4% - 6% de  $\text{CO}_2$ .

Para a realização do subcultivo (passagem) da linhagem celular foi retirado o meio de cultura e lavada a monocamada uma vez com solução salina tamponada com fosfato livre de Cálcio e Magnésio (PBS)(Gibco), agitando delicadamente a garrafa para lavar a monocamada das células. Após a lavagem inicial com PBS foi adicionada a solução comercial TrypLE™ Express (Gibco) para tripsinização celular. A quantidade de tripsina utilizada varia de modo a preencher superficialmente toda a monocamada da garrafa. A garrafa seguiu para incubação em estufa com temperatura até  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  com  $5 \pm 1\%$   $\text{CO}_2$  por 3 a 5 minutos, para que a monocamada se desprendesse com mais facilidade.

Após o desprendimento da monocamada, foi adicionada uma alíquota de meio DMEM 10% SFB(Sigma) e 1% P/S(Gibco), previamente preparado e armazenado refrigerado para auxiliar na inibição da ação da tripsina. As células foram dissociadas energeticamente por aspirações e liberações sucessivas da suspensão celular usando uma pipeta de volume adequado, e um pool das soluções contidas nas garrafas foi realizado. Após a homogeneização e dissociação das células, esta suspensão celular foi transferida para um tubo tipo Falcon e foi centrifugada por cinco minutos a 1080 rpm em temperatura ambiente.

Em seguida, descartou-se o sobrenadante, ressuspendeu-se as células em DMEM 10% SFB(Sigma) e 1% P/S(Gibco) e seguiu para a contagem das células, de acordo com o PU nº 3430.053 (INCQS, 2018). Posteriormente, calculou-se o volume necessário a ser utilizado no subcultivo.

#### 4.2.2 Preparo e fornecimento da suspensão celular

Para a realização do ensaio de determinação de potência da vacina AZD-1222 contra a COVID-19, a linhagem celular fornecida deve estar entre as passagens P2 e P20, e possuir concentração de  $2,8 \times 10^5 (\pm 10\%)$  células/mL.

Após tripsinização da monocamada de células em cultura e ressuspensão em meio fresco, foi realizada a contagem celular em câmara de Neubauer. Determinada a concentração de  $2,8 \times 10^5$  ( $\pm 10\%$ ) células/mL, a suspensão celular foi fornecida em erlenmeyer de acordo com o volume necessário para a realização do ensaio, estipulado previamente em solicitação prevista no PU nº 3430-062 (INCQS,2022).

#### 4.2.3 Preparo do meio de diluição da vacina

O DMEM suplementado com 10% SFB(Sigma) e 1% P/S(Gibco) foi utilizado como meio de manutenção das culturas celulares, como meio de fornecimento e como meio de diluição da vacina no ensaio de infectividade.

### 4.3 Revestimento das placas com Poli D-Lisina

A poli-D-lisina (PDL) é um composto sintético, utilizado para melhorar a adesão celular e a absorção de proteína, alterando as cargas de superfície do substrato celular.

Para o revestimento da placa de 24 poços, em CSB, adicionou-se 0,25 mL de solução de PDL em cada poço da placa. Após adicionar a solução, a placa foi tampada e agitada gentilmente para garantir a homogeneização da solução sobre a superfície do poço; a placa então foi incubada por, pelo menos, 5 minutos em temperatura ambiente. Após a incubação, o líquido de cada poço foi removido, por inversão da placa em recipiente para descarte ou por aspiração. Em seguida, os poços foram lavados, três vezes, com um mL de água destilada ultrapura (Sigma). Na última lavagem, o volume de água foi removido totalmente do poço e a placa foi deixada secando por, no mínimo, 1 hora, até estar completamente seca.

#### 4.4 Plaqueamento de células

Na etapa de plaqueamento das células, as placas revestidas com poli-D-lisina foram identificadas com a data do início do ensaio, número do ensaio e nome ou iniciais do operador. Em seguida, foram distribuídos 900  $\mu\text{L}$  da suspensão celular (concentração de  $2,8 \times 10^5 (\pm 10\%)$  células/mL) em cada poço da placa de ensaio. Após o plaqueamento, as placas foram tampadas e homogeneizadas de forma a distribuir uniformemente as células na superfície de cultura dos poços.

Depois do plaqueamento a placa foi incubada, por no máximo 120 minutos, em estufa à temperatura de  $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ , com atmosfera de 4% - 6% de  $\text{CO}_2$ , durante o preparo das diluições das amostras.

#### 4.5 Preparação da diluição seriada em megaplaca

Para a preparação da diluição seriada, utilizou-se o meio DMEM 10% SFB com 1% de Penicilina-Estreptomicina, o mesmo utilizado anteriormente na suspensão celular distribuída na microplaca. Foram distribuídos, com o auxílio de uma pipeta multicanal automática, 270  $\mu\text{L}$  do meio de diluição em cada poço da megaplaca referente ao material de referência (MR). Para cada ensaio, foram preparadas duas diluições seriadas (duplicatas) para o material de referência. A alíquota de MR utilizada para cada ensaio foi previamente descongelada e homogeneizada antes do uso, conforme bula do produtor. Para o preparo da diluição seriada, 30  $\mu\text{L}$  do MR foram adicionados ao primeiro poço de cada duplicata e deu-se início a diluição, utilizando fator 10, com diluição final de  $10^{-5}$ . Cada diluição foi homogeneizada 10 vezes antes do preparo da diluição seguinte. Finalizado o preparo das diluições do MR, foram distribuídos 270  $\mu\text{L}$  do meio de diluição (DMEM 10% SFB com 1% de Penicilina-Estreptomicina) em dois poços da megaplaca, destinados ao controle negativo do ensaio.

#### **4.6 Infecção das células**

A placa contendo células foi então retirada da estufa, após período de no máximo 120 minutos, e, com auxílio de pipeta monocal, 100 µL das duplicatas de controle negativo e 100 µL das duplicatas do MR na diluição de  $10^{-5}$  foram transferidas da megaplaca para os respectivos poços placa de ensaio. Em seguida, a placa foi incubada em estufa à  $37\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ , com atmosfera de 4% - 6% de  $\text{CO}_2$ , por 46 – 48 horas.

#### **4.7 Fixação das células**

Após 46 – 48 horas de incubação das placas, as mesmas foram examinadas ao microscópio para verificar se houve contaminação microbiana, e, caso não tenha havido contaminação, o meio de cultura é removido por inversão em um recipiente para resíduos. Com auxílio de pipeta multicanal (em velocidade mínima de despejo) as células foram fixadas com um mL de metanol (J.T. Baker), distribuído em cada poço.

As placas foram incubadas à temperatura ambiente por 30 minutos e, ao final deste tempo, todo o metanol foi removido dos poços por inversão em um recipiente para descarte de resíduos, sendo retirado qualquer resíduo de metanol através de leves batidas em papel absorvente. Em seguida, os poços foram lavados, três vezes, com um mL de PBS

#### **4.8 Imunocoloração**

A imunocoloração, ou imunomarcção, é dividida em três etapas: a primeira dá-se pela adição de anticorpo primário monoclonal específico; a segunda dá-se pela adição de anticorpo policlonal secundário contra imunoglobulinas conjugado; e, por último, dá-se a adição de substrato colorimétrico específico, no caso do ensaio substrato DAB.

Para a primeira etapa, foram adicionados 250  $\mu$ L por poço da solução de anticorpo de camundongo contra adenovírus (Abcam) previamente diluído com PBS/BSA 1% (Sigma) na concentração final de 1:1000. Seguiu-se para homogeneização e posterior incubação, em temperatura ambiente, num agitador orbital a 50-60 rpm, por  $60 \pm 10$  minutos. Após a incubação, o líquido de cada poço foi removido por inversão da placa em recipiente para descarte, ou por aspiração, e então os poços foram lavados três vezes, com um mL de PBS. A placa foi passada sobre papel absorvente para secagem e remoção do líquido residual.

Na segunda etapa, foram adicionados 250  $\mu$ L por poço da solução de anticorpo secundário policlonal de coelho contra IgG de camundongo (HRP) (Abcam) previamente diluído com PBS/BSA 1% na concentração final de 1:2000. Seguiu-se para homogeneização e posterior incubação, em temperatura ambiente, num agitador orbital a 50-60 rpm, por  $60 \pm 10$  minutos. Após a incubação, o líquido de cada poço foi removido por inversão da placa em recipiente para descarte, ou por aspiração, e então os poços foram lavados três vezes, com um mL de PBS. A placa foi passada sobre papel absorvente para secagem e remoção do líquido residual.

Na última etapa de coloração, foram adicionados 250  $\mu$ L por poço da solução de DAB (Thermo Scientific) previamente diluído em tampão de substrato de peróxido estável. Seguiu-se para homogeneização e posterior incubação, em temperatura ambiente, num agitador orbital a 50-100 rpm, por  $10 \pm 2$  minutos. Após a incubação, o líquido de cada poço foi removido por inversão da placa em recipiente para descarte, ou por aspiração, e então os poços foram lavados três vezes, com um mL de água destilada ultrapura (Sigma). Na última repetição da lavagem, foi mantido o volume de um mL de água destilada ultrapura na placa para realização da leitura.

#### **4.9 Leitura da placa**

Para a leitura da placa foi utilizado microscópio invertido (Nikon Eclipse TS100), (aumento de 100x), dotado de lente ocular de 22 mm e objetiva de 10X, para contagem de células. O quadro 1 foi utilizado para determinar o intervalo de contagem de células e o número total de campos por poço. Utilizando um contador, foram contadas as

células coradas em marrom (presença de infecção/antígeno viral), em cinco campos do poço, conforme ilustrado na figura 9, seguindo os seguintes critérios:

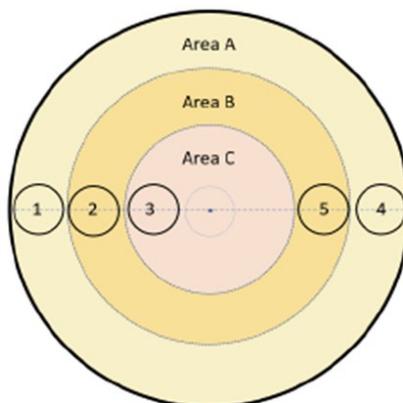
- Contar dois campos nas áreas A, dois na área B e um na área C, não sobrepondo campos adjacentes;
- Não contar campos que contenham áreas danificadas ou com descolamento celular;
- Contar células aglomeradas (quando não for possível distinguir seus limites) como uma só célula;
- Se os 5 campos não puderem ser contados no poço selecionado, este poço não deve ser contado e a amostra precisará ser testada novamente;
- Não incluir células fora do intervalo de contagem para cálculo de título.

**Quadro 1** - Intervalo de contagem de células e total de campos por poço de acordo com a lente ocular.

Número de campo da lente ocular	Total de campos por poço	Intervalo de contagem de células coradas
18 mm	75	7 – 100 células/campo
20 mm	61	8 – 124 células/campo
22 mm	50	10 – 150 células/campo

Fonte: (INCQS, 2022a).

**Figura 9** - Ilustração da organização do poço em áreas A, B e C para contagem de células.



Fonte: (INCQS, 2022a)

#### 4.10 Análise dos resultados

A análise dos resultados é fundamentada no cálculo da média da contagem de células coradas a partir dos cinco campos. O título infeccioso (valor da potência) e o coeficiente de variação foram calculados, conforme o POP nº 65.3430.049 estabelecido pelo INCQS.

#### 4.11 Critérios de aceitação do ensaio

Todos os ensaios aprovados obedeceram aos parâmetros descritos no Quadro 2:

**Quadro 2** - Critérios de aceitação do ensaio de infectividade da vacina AZD-1222.

<b>Parâmetro</b>	<b>Critério</b>
Infectividade	$\geq 7,0 \times 10^8$ ifu/mL
A contagem de células MR deve estar dentro da faixa em um ou mais níveis de diluição eficazes	Contagem de células coradas recomendada de acordo com o número do campo e do diâmetro da lente ocular usada
Cada campo CN	$\leq 5$ células coradas
%CV título entre as duplicatas do MR na mesma diluição	$\leq 30\%$
Resultado de infectividade do MR* (pelo menos de um nível de diluição)	Título infeccioso esperado $\pm 3DP$ (conforme gráfico controle estabelecido no INCQS)

\*critério determinado após o estabelecimento do gráfico controle.

Fonte: (Do autor, 2023)

#### **4.12 Construção do gráfico controle pelo *software* SPC-PC IV EXPLORER (Statistical Process Control)**

A partir da coleta dos dados, os gráficos foram confeccionados como preconizado pela OMS. Os eixos dos gráficos foram formados pelo tempo (abscissa) e pelo resultado do teste de potência (ordenada). As linhas horizontais contínuas, tracejadas e pontilhadas do gráfico representam a média e os limites superiores e inferiores de controle e de alerta, respectivamente. Os limites de alerta são calculados a partir da média adicionada de dois desvios-padrão (DP), e os limites de controle são calculados a partir da média adicionada de 3 DP. As médias, os desvios-padrão e os limites foram calculados com os 20 primeiros valores obtidos. Depois de adicionados aos gráficos, os valores foram imediatamente submetidos aos testes ou regras de controle no programa SPC-PC IV EXPLORER. Os testes de controle aplicados, de acordo com o POP nº 65.3400.002 estabelecido pelo INCQS, foram:

- Existência de algum ponto além dos limites de controle;
- Seis valores consecutivos ascendentes ou descendentes;
- Nove pontos sucessivos do mesmo lado da linha central;
- Dois pontos sucessivos além de 2 DP (Limite de Alerta).

## **5. RESULTADOS**

## 5.1 Ensaio de potência

De acordo com a leitura das placas, foram obtidos os resultados da média da potência estimada das duplicatas do material de referência apresentadas nas tabelas abaixo:

**Tabela 1** - Valores de potência encontrados no Material de Referência analisados durante o estabelecimento dos limites de controle.

Estabelecimento - Material de Referência	
Número do resultado	Resultado da potência (ifu/mL)
1	1,67 x 10 <sup>9</sup>
2	1,58 x 10 <sup>9</sup>
3	1,44 X 10 <sup>9</sup>
4	1,39 X 10 <sup>9</sup>
5	1,44 x 10 <sup>9</sup>
6	1,48 x 10 <sup>9</sup>
7	1,58 x 10 <sup>9</sup>
8	1,29 x 10 <sup>9</sup>
9	1,39 x 10 <sup>9</sup>
10	1,33 x 10 <sup>9</sup>
11	1,88 x 10 <sup>9</sup>
12	1,55 x 10 <sup>9</sup>
13	1,42 x 10 <sup>9</sup>
14	1,52 x 10 <sup>9</sup>
15	1,57 x 10 <sup>9</sup>
16	1,50 x 10 <sup>9</sup>
17	1,74 x 10 <sup>9</sup>
18	1,83 x 10 <sup>9</sup>
19	1,71 x 10 <sup>9</sup>
20	1,24 x 10 <sup>9</sup>

Fonte: (Do autor, 2023).

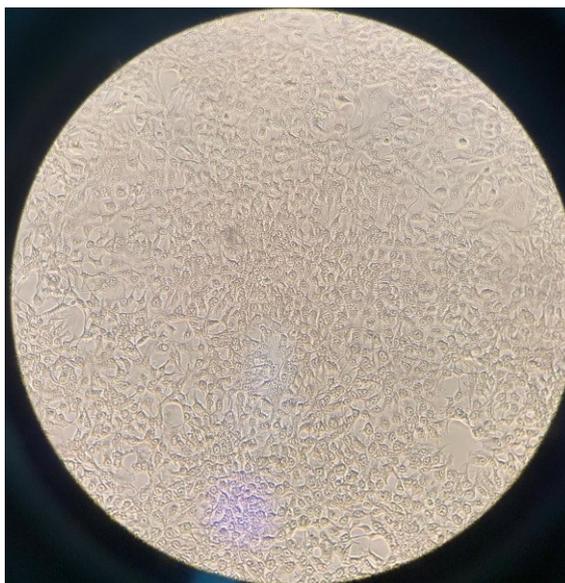
**Tabela 2** - Valores de potência encontrados no Material de Referência analisados durante o acompanhamento nos ensaios realizados.

Acompanhamento - Material de Referência	
Número do ensaio	Resultado da potência (ifu/mL)
1	1,54 x 10 <sup>9</sup>
2	1,63 x 10 <sup>9</sup>
3	1,64 x 10 <sup>9</sup>
4	1,36 x 10 <sup>9</sup>
5	1,72 x 10 <sup>9</sup>
6	1,73 x 10 <sup>9</sup>
7	1,26 x 10 <sup>9</sup>
8	1,33 x 10 <sup>9</sup>

Fonte: (Do autor, 2023).

De acordo com as potências obtidas, pode-se observar que as leituras foram homogêneas, mesmo sendo definidas pela leitura de dois analistas diferentes. Além disso, todas as monocamadas de células de controle negativo mantiveram-se bem definidas e inalteradas após o período de incubação das placas, conforme a ilustração na Figura 10.

**Figura 10** - Monocamada de células de controle negativo.



Fonte: (Do autor, 2023)

Os resultados exibidos nas tabelas acima correspondem ao número de partículas infecciosas por mL, obtidos pela contagem de células infectadas por partículas virais viáveis marcadas por cromógeno líquido que produz uma coloração marrom. Podemos observar o efeito da infecção celular conforme a ilustração na Figura 11.

**Figura 11** - Monocamada apresentando células infectadas marcadas por cromógeno.

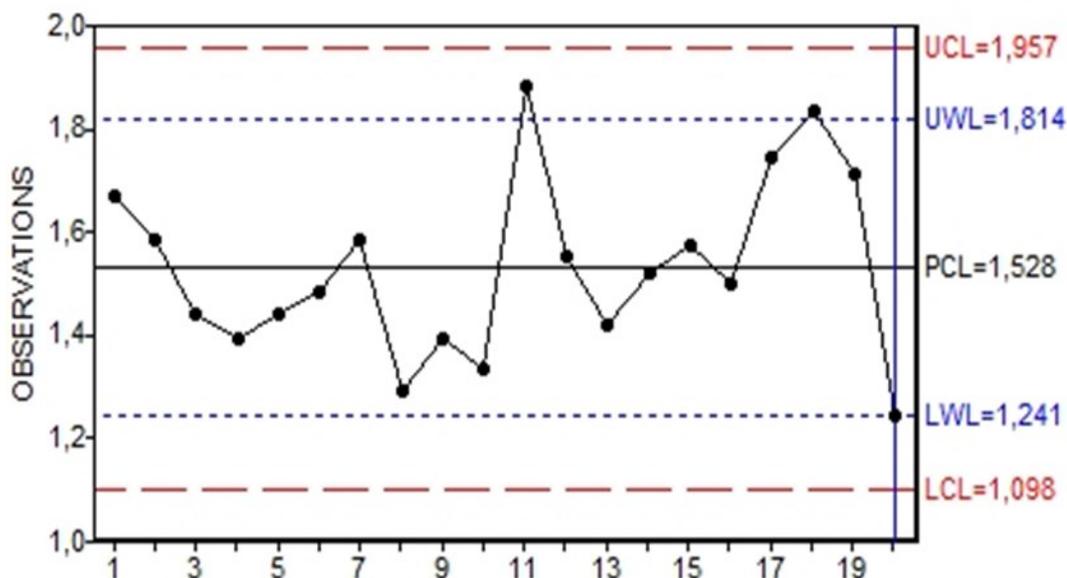


Fonte: (Do autor, 2023)

## 5.2 Construção do gráfico controle

Os resultados foram plotados no gráfico controle para realizar o controle sistemático do lote do material de referência, no qual as médias, os DP e os limites de alerta e controle foram definidos com base nos 20 primeiros resultados de infectividade mensurados, observado na figura 12.

**Figura 12** - Gráfico de Controle dos resultados de potência do material de referência.



Fonte: (Gerado pelo *software* SPC).

--- LSA (UWL): Limite Superior de Alerta; --- LIA (LWL): Limite Inferior de Alerta; --- LSC (UCL): Limite Superior de Controle; --- LIC (LCL): Limite Inferior de Controle; \_\_\_\_\_ média (PCL).

Com a elaboração do gráfico foram delineadas no SPC as faixas limites específicas para o lote do material de referência utilizado conforme a tabela 3:

**Tabela 3** - Limites estabelecidos pelo SPC-PC IV EXPLORER.

Amostra	PCL (média)	LCL - UCL	LWL - UWL
Material de referência	1,528	1,098 - 1,957	1,241 - 1,814

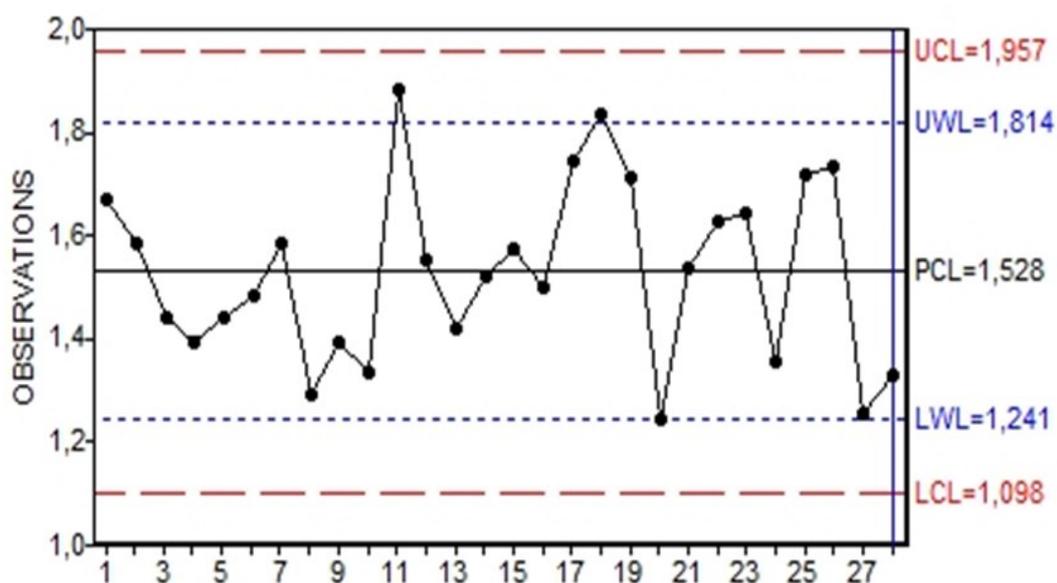
Fonte: (Do autor, 2023).

\*LSA (UWL): Limite Superior de Alerta; LIA (LWL): Limite Inferior de Alerta; LSC (UCL): Limite Superior de Controle; LIC (LCL): Limite Inferior de Controle; média (PCL).

### 5.3 Controle estatístico e acompanhamento do processo utilizando o gráfico controle

Após o estabelecimento dos limites realizamos o acompanhamento dos resultados das potências do material de referência, como forma de avaliar a estabilidade do processo e a qualidade do material de referência.

**Figura 13** - Gráfico de Controle de acompanhamento dos resultados de potência do material de referência obtidos nos ensaios.



Fonte: (Gerado pelo *software* SPC).

--- LSA (UWL): Limite Superior de Alerta; --- LIA (LWL): Limite Inferior de Alerta; --- LSC (UCL): Limite Superior de Controle; --- LIC (LCL): Limite Inferior de Controle; \_\_\_\_\_ média (PCL).

## 6. DISCUSSÃO

As vacinas de uso humano são medicamentos profiláticos com a capacidade de induzir a imunidade específica no indivíduo vacinado frente a um agente infeccioso. Com a institucionalização do PNI, estes imunobiológicos passaram a sofrer um rígido controle da qualidade no Brasil por determinação do Ministério da Saúde com objetivo principal de estimular e expandir a utilização de agentes imunizantes, tanto de origem nacional quanto internacional, buscando a integridade e a uniformidade das ações relativas às imunizações realizadas no país (NETTO *et al.*, 2010)

O processo de controle da qualidade de imunobiológicos tem como objetivo avaliar as especificações definidas em normas oficiais e/ou registro sanitário, e as ferramentas aqui apresentadas podem subsidiar o INCQS com dados relevantes no que diz respeito ao monitoramento da consistência de produção, eventuais mudanças de processos e até auxiliar na percepção de necessidade e/ou na condução de auditorias em laboratórios produtores (NETTO *et al.*, 2011).

O material de referência é utilizado como amostra de controle, para verificar se os resultados obtidos em um determinado ensaio estão em conformidade com os resultados obtidos nos ensaios de validação do procedimento analítico. A utilização do material de referência em conjunto com gráficos de controle permite a avaliação do processo de controle da qualidade de um imunobiológico, além disso, permite identificar causas especiais de variação do processo (NETTO *et al.*, 2011).

Também é possível observar variações naturais do processo, também denominadas causas comuns de variação, que estarão presentes mesmo que todas as operações sejam executadas com métodos padronizados. Quando ocorrem somente causas comuns de variação, todos os valores se encontram dentro dos limites de controle (Figura 12 e 13). Neste caso, diz-se que apesar da variabilidade, o processo está sob controle estatístico. Porém, por se tratar de um gráfico que controla a variação do processo, não é uma ferramenta que desempenha a função de apontar as causas de tais variações, e sim, apenas aponta se existem causas gerando alteração nesta estabilidade. A identificação de tais causas pode ser realizada com o auxílio de outras ferramentas (AGUIAR, 2006).

O presente estudo possui a finalidade de elaborar o primeiro gráfico controle da vacina de referência para utilização nos ensaios futuros de potência da vacina contra COVID-19 (AZD1222), realizados no DI.

De acordo com os gráficos, os ensaios realizados não apresentaram nenhum valor acima ou abaixo dos limites permissíveis, além disso, os valores de potência passaram de forma competente nos testes de desempenho aplicados ao gráfico de controle, apresentando flutuações dentro dos limites esperados para um produto biológico avaliado por um ensaio biológico.

## 7. CONCLUSÕES

A análise dos resultados obtidos no presente estudo permite concluir que:

- De acordo com os ensaios realizados por diferentes analistas, a vacina de referência apresentou valores de potência satisfatórios e em conformidade com as especificações do fabricante.
- Os resultados do material de referência nos ensaios realizados apresentaram valores de potência homogêneos, dentro dos limites de controle.
- Todos os ensaios foram considerados válidos e satisfatórios, pois cumpriram com os critérios de aceitação do ensaio e se mantiveram dentro dos limites estabelecidos.
- A utilização do Gráfico de Controle foi eficaz no monitoramento e controle sistemático do processo.

## **8. PERSPECTIVAS**

Como perspectiva do trabalho, a partir da entrada de mais lotes de vacinas para análise no INCQS, os valores de limite de controle obtidos pelo gráfico de controle serão utilizados para validação dos ensaios de liberação de lotes subsequentes da vacina AZD-1222 adquiridas pelo PNI.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (Brasil). Vacinas - Covid-19. Brasília, 2022. Disponível em:

[https://www.gov.br/anvisa/pt\[1\]br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas](https://www.gov.br/anvisa/pt[1]br/assuntos/paf/coronavirus/vacinas). Acesso em: 16 jan 2023

AGUIAR, Silvio. Integração das ferramentas da qualidade ao PDCA e ao Programa 6 Sigma. **Nova Lima: Tecnologia e Serviços LTDA**, p. 1205-206, 2006.

ALVES, Emanuele Amorim; GUIMARÃES, Anna Christina Rosa. Cultivo celular. In: MOLINARO, Etelcia Moraes; CAPUTO, Luzia Fátima Gonçalves; AMENDOEIRA, Maria Regina Reis (org.). **Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde**. Rio de Janeiro: EPSJV, 2010. p. 215-253. v. 2.

ARAUJO, Fernando Henrique Antunes de; FERNANDES, Leonardo HS. Lighting the populational impact of covid-19 vaccines in brazil. **Fractals**, 2022. Disponível em: <https://ssrn.com/abstract=4171331> or <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.4171331>. Acesso em: 2 jan. 2023

ARTE, Inah Francisco de Paula do et al. **Elaboração de carta controle da vacina de referência para utilização nos ensaios de potência da vacina da dengue**. 2019. Tese (Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços). INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2019.

BALLERING, Aranka V. et al. Persistence of somatic symptoms after COVID-19 in the Netherlands: an observational cohort study. **The Lancet**, v. 400, n. 10350, p. 452-461, 2022.

BRANDÃO, M.; CRISTALDO, H. Vacinação contra a COVID-19 começa em todo o país. Agência Brasil, Brasília, 19 jan 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/saude/noticia/2021-01/vacinacao-contracovid-19-come%C3%A7a-em-todo-o-pais>. Acesso em: 8 jan 2023.

BRASIL. Decreto n° 78.231, de 12 de agosto de 1976. Regulamenta a Lei n° 6.259, de 30 de outubro de 1975, que dispõe sobre a organização das ações de Vigilância Epidemiológica, sobre o Programa Nacional de Imunizações, estabelece normas relativas à notificação compulsória de doenças, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 13 ago. 1976. Disponível em: [https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1970-1979/decreto-78231-12-agosto\[1\]1976-427054-publicacaooriginal-1-pe.html](https://www2.camara.leg.br/legin/fed/decret/1970-1979/decreto-78231-12-agosto[1]1976-427054-publicacaooriginal-1-pe.html). Acesso em: 9 jan 2023

BRASIL. LEI Nº 12.401, DE 28 DE ABRIL DE 2011. Altera A Lei Nº 8.080, De 19 De Setembro De 1990, Para Dispor Sobre A Assistência Terapêutica E A Incorporação De Tecnologia Em Saúde No Âmbito Do Sistema Único De Saúde - Sus. **Diário Oficial Da União**: Seção1, 29 De Abril 2011. Disponível em: [https://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2011-2014/2011/lei/l12401.htm](https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2011-2014/2011/lei/l12401.htm) . Acesso em: 10 Nov 2022

BRASIL. Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**: seção1, 24 de set. 1976a. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l6360.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6360.htm). Acesso em: 10 Nov 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 497, de 20 de maio de 2021. Dispõe sobre os procedimentos administrativos para concessão de Certificação de Boas Práticas de Fabricação e de Certificação de Boas Práticas de Distribuição e/ou Armazenagem. **Diário Oficial da União**. Brasília, 26 mai 2021. Disponível em: [https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n\[1\]497-de-20-de-maio-de-2021-322110518](https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-rdc-n[1]497-de-20-de-maio-de-2021-322110518). Acesso em: 25 dez. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 301, de 21 de agosto de 2019. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, 22 ago 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 73, de 21 de outubro de 2008. Dispõe sobre o Regulamento Técnico para procedimento de liberação de lotes de vacinas e soros hiperimunes heterólogos para consumo no Brasil e também para exportação. **Diário Oficial da União**. Brasília, 22 out. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 55, DE 16 DE DEZEMBRO DE 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. **Diário Oficial da União**. Brasília, 21 de agosto de 2006. Disponível em: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/anexo/anexo\\_res0055\\_16\\_12\\_2010.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/anexo/anexo_res0055_16_12_2010.pdf). Acesso em: 25 nov. 2022.

BRASIL. Ministério de Estado da Saúde. **Registros de Vacinação COVID-19** , Brasília, Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://opendatasus.saude.gov.br/dataset/covid-19-vacinacao>. Acesso em: 28 Nov 2022a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 348, DE 17 DE MARÇO DE 2020. Define os critérios e os procedimentos

extraordinários e temporários para tratamento de petições de registro de medicamentos, produtos biológicos e produtos para diagnóstico in vitro e mudança pós-registro de medicamentos e produtos biológicos em virtude da emergência de saúde pública internacional decorrente do novo Coronavírus. **Diário Oficial da União**. Brasília, 18 março 2020a. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/portaria/Resolucao%20n%C2%BA%20348-ANVISA.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/portaria/Resolucao%20n%C2%BA%20348-ANVISA.htm) . Acesso em: 25 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 415, DE 26 DE AGOSTO DE 2020. Define novos critérios e procedimentos extraordinários para tratamento de petições de registro e mudanças pós-registro de medicamentos e produtos biológicos em virtude da emergência de saúde pública internacional decorrente do novo Coronavírus. **Diário Oficial da União**. Brasília, 26 de agosto de 2020b. Disponível em: <https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/resolucao-de-diretoria-colegiada-rdc-n-415-de-26-de-agosto-de-2020-274387454> . Acesso em: 25 nov. 2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. VACINAÇÃO. Brasília, 03 nov 2022. Disponível em: <https://www.saude.df.gov.br/vacina>. Acesso em: 1 dez 2022.

BERSIMIS, Sotiris; PSARAKIS, Stelios; PANARETOS, John. Multivariate statistical process control charts: an overview. **Quality and Reliability engineering international**, v. 23, n. 5, p. 517-543, 2007.

CAO, Lirong et al. Rapid evaluation of COVID-19 vaccine effectiveness against symptomatic infection with SARS-CoV-2 variants by analysis of genetic distance. **Nature Medicine**, v. 28, n. 8, p. 1715-1722, 2022.

CARVALHO, R. F. **Estudo da infectividade da vacina tetravalente da dengue em diferentes linhagens celulares e sua aplicabilidade em um ensaio de potência**. 2021. 171 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2021

CARVALHO, Renata Faria et al. **Avaliação da potência do componente da hepatite B nas vacinas combinadas pentavalentes (DTP/HB/Hib) de diferentes produtores**. 2014. 76 f. Tese (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

CÉSAR, Msc Francisco I. Giocondo. **Ferramentas básicas da qualidade**. biblioteca24horas, 2011.

CHUNG, J.Y.; THONE, M.N.; KWON, Y, J. COVID-19 vaccines: The status and perspectives in delivery points of view. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 170, p. 1-25, 2021.

DOLBERTH, Bruna Neves; DEL SENT, Taoana Gottens; SCHMIDT, Clenise Liliane. Mortalidade por COVID-19 em idosos do Estado do Paraná: análise dos indicadores com o avanço da cobertura vacinal COVID-19 mortality in the elderly in Paraná

State: analysis of indicators with advancing vaccination coverage. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 5, n. 1, p. 2953-2964, 2022.

DOMINGUES, C.M.A.S. et al. 46 anos do Programa Nacional de Imunizações: uma história repleta de conquistas e desafios a serem superados. **Cad. Saúde Pública**, v. 36, 2020.

DOS SANTOS, Jarbas Emílio et al. Aplicação do conceito do erro total na validação do ensaio de potência da vacina oral contra a poliomielite. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, n. 4, p. 613-621, 2011.

EMARY, Katherine RW et al. Efficacy of ChAdOx1 nCoV-19 (AZD1222) vaccine against SARS-CoV-2 variant of concern 202012/01 (B. 1.1. 7): an exploratory analysis of a randomised controlled trial. **The Lancet**, v. 397, n. 10282, p. 1351-1362, 2021.

EWEN-CALLAWAY, E.; SPENCER, N. The race for coronavirus vaccine. **Nature**, v. 580, p. 576-577, 2020.

FERNANDES DE LIMA, J. .; RIBEIRO DE MORAIS, S.; OLIVEIRA, T. L. S. . TECNOLOGIAS DE PRODUÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE DE VACINAS: UMA REVISÃO. **RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar - ISSN 2675-6218**, [S. l.], v. 3, n. 1, p. e311097, 2022. DOI: 10.47820/recima21.v3i1.1097. Disponível em: <https://www.recima21.com.br/index.php/recima21/article/view/1097>. Acesso em: 10 jan. 2023.

FURLAN, Leonardo; CARAMELLI, Bruno. The regrettable story of the “Covid Kit” and the “Early Treatment of Covid-19” in Brazil. **The Lancet Regional Health–Americas**, v. 4, 2021.

GANESH, Balasubramanian et al. Epidemiology and pathobiology of SARS-CoV-2 (COVID-19) in comparison with SARS, MERS: An updated overview of current knowledge and future perspectives. **Clinical epidemiology and global health**, v. 10, p. 100694, 2021.

GIOVANETTI, Marta et al. Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. **Nature Microbiology**, v. 7, n. 9, p. 1490-1500, 2022.

GOMEZ, P.; ROBINSON, J.M.; ROGALEWICZ, J.A. Vaccine manufacturing. **Vaccines**, p. 44-57, 2013.

GRIFONI, Alba et al. Targets of T cell responses to SARS-CoV-2 coronavirus in humans with COVID-19 disease and unexposed individuals. **Cell**, v. 181, n. 7, p. 1489-1501. e15, 2020.

HALLAL, Pedro C. SOS Brazil: science under attack. **The Lancet**, v. 397, n. 10272, p. 373-374, 2021.

HAN, Qing et al. Long-Term sequelae of COVID-19: A systematic review and meta-analysis of one-year follow-up studies on post-COVID symptoms. **Pathogens**, v. 11, n. 2, p. 269, 2022.

HU, Qunfang; HE, Lei; ZHANG, Ying. Community Transmission via Indirect Media-To-Person Route: A Missing Link in the Rapid Spread of COVID-19. **Frontiers in Public Health**, p. 1064, 2021.

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3400.002**: Gráficos de controle para medidas individuais e amplitudes móveis em ensaios biológicos. Rev. 3. Rio De Janeiro: INCQS, 2018. 18 p. (Manual Da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **POP 65.3430.049**: Determinação da potência de vacina recombinante contra COVID-19 (azd-1222) por ensaio de infectividade. Rev. 0. Rio De Janeiro: INCQS, 2022a. 41 p. (Manual Da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **PU 3430.053**: Contagem de células em câmara de Newbauer. Rev. 1. Rio De Janeiro: INCQS, 2019. 8 p. (Manual Da Qualidade. Seção 4.3).

INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE. **PU 3430.062**: Manutenção da linhagem celular HEK-293 utilizada no ensaio de infectividade da vacina contra COVID-19. Rev. 0. Rio De Janeiro: INCQS, 2022b. 4 p. (Manual Da Qualidade. Seção 4.3).

JACKSON, Cody B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 23, n. 1, p. 3-20, 2022.

KARIA, R. et al. COVID-19 and it's modes of transmission. **SN Compr Clin Med**. 2020; 1–4.

KASUGA, Yusuke et al. Innate immune sensing of coronavirus and viral evasion strategies. **Experimental & molecular medicine**, v. 53, n. 5, p. 723-736, 2021.

KHAN, Afzal Husain et al. COVID-19 transmission, vulnerability, persistence and nanotherapy: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 19, n. 4, p. 2773-2787, 2021.

KOBAYASHI, L. M. **Avaliação da consistência de produção das vacinas contra covid-19 no ano de 2021, utilizando como indicador o ensaio de potência dos produtores**. 2022. 80 f. Tese (Residência Multiprofissional em Saúde na Área de Vigilância Sanitária com Ênfase na Qualidade de Produtos, Ambientes e Serviços). INSTITUTO NACIONAL DE CONTROLE DE QUALIDADE EM SAÚDE, FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, 2022.

LI, Yen-Der et al. Coronavirus vaccine development: from SARS and MERS to COVID-19. **Journal of biomedical science**, v. 27, n. 1, p. 1-23, 2020.

LUSKY, M. Good Manufacturing Practice Production of Adenoviral Vectors for Clinical Trials. **HUMAN GENE THERAPY**, v. 16, p.281–291, 2005.

MATHIEU, Edouard et al. A global database of COVID-19 vaccinations. **Nature human behaviour**, v. 5, n. 7, p. 947-953, 2021.

MIGITA, N. A. **Cultivo celular in vitro: importância para a pesquisa biomédica e dimensão da problemática de autenticação de linhagens celulares**. 2012. 68 f. Monografia (Graduação em Ciências Biomédicas). Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2012.

MIRI, Malena Rostirola. **Surtos de COVID-19 nos serviços de saúde da cidade de Porto Alegre: caracterização dos serviços e dados clínico-epidemiológicos dos profissionais de saúde afetados**. 2022. 123f. Tese (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2022.

MOHAMMADPOUR, Somayeh et al. An updated review of the association of host genetic factors with susceptibility and resistance to COVID-19. **Journal of Cellular Physiology**, v. 236, n. 1, p. 49-54, 2021.

MORAES, CH de et al. Ferramentas da qualidade aplicadas na otimização de um processo de calibração de instrumentos de medição. **Organização Editora Poisson. Gestão da produção em foco**, v. 7, p. 63-71, 2018.

MORENS, David M.; TAUBENBERGER, Jeffery K.; FAUCI, Anthony S. Universal coronavirus vaccines—an urgent need. **New England Journal of Medicine**, v. 386, n. 4, p. 297-299, 2022.

MOURA, M. L. C. de.; AZEVEDO, S. L. de.; PARENTE, J. da S.; OLIVEIRA, A. S. da F. S. R. de; BRANDÃO, F. C. B. The track of COVID-19 in the world: theoretical reflection on the repercussion of the pandemic and its consequences on the health of nursing professionals. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. e3410312903, 2021. DOI: 10.33448/rsd-v10i3.12903. Disponível em: <https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/12903>. Acesso em: 6 jan. 2023.

MOURA, W. C. **Aplicação do conceito dos três Rs nos ensaios de controle da qualidade de imunobiológicos para raiva**. 2009. 134 f. Tese (Doutorado em Vigilância Sanitária)- Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009.

MURHEKAR, Manoj V. et al. SARS-CoV-2 seroprevalence among the general population and healthcare workers in India, December 2020–January 2021. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 108, p. 145-155, 2021.

NAQVI, Ahmad Abu Turab et al. Insights into SARS-CoV-2 genome, structure, evolution, pathogenesis and therapies: Structural genomics approach. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 10, p. 165878, 2020.

NETTO, E. J. R. **Avaliação do controle da qualidade das vacinas contra febre amarela analisadas no Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde no período de 2000 a 2008**. 2010. 66 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Vigilância Sanitária) - Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2010.

NETTO, E. J. R. et al. Controle da qualidade de vacinas contra febre amarela utilizadas no Programa Nacional de Imunizações do Brasil. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 70, n. 4, p. 606-612, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **COVID-19 vaccines technical documents**. Geneva, 25 nov 2022. Disponível em: [https://www.who.int/groups/strategic-advisory-group-of-experts-on\[1\]immunization/covid-19-materials](https://www.who.int/groups/strategic-advisory-group-of-experts-on[1]immunization/covid-19-materials). Acesso em: 25 nov 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Detecção de antígeno no diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2 usando imunoensaios rápidos: orientação provisória**, 11 de setembro de 2020b. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/334253>. Acesso em: 15 dez 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Technical Reports Series, Recommendations for the preparation, characterization and establishment of international and other biological reference standards. n. 932, 2006.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Tracking SARS-CoV-2 variants**. Geneva, 8 jan 2023. Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/trackingSARS-CoV-2-variants>. Acesso em: 8 jan 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Transmission of SARS-CoV-2: implications for infection prevention precautions**. Geneva, 9 jul 2020. Disponível em: [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333114/WHO-2019-nCoV-Sci\\_Brief-Transmission\\_modes-2020.3-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/333114/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Transmission_modes-2020.3-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y). Acesso em: 1 HU 5 jan 2022.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard**. Geneva, 10 jan 2023a. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em: 10 jan 2023.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020**. Geneva, 11 mar 2020a. Disponível em: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>. Acesso em: 15 jan 2023.

PAWLOS, Agnieszka et al. COVID-19: direct and indirect mechanisms of statins. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 4177, 2021.

PONTE, Carlos Fidelis. Vacinação, controle de qualidade e produção de vacinas no Brasil a partir de 1960. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 10, p. 619-653, 2003.

SALIAN, Vrishali S. et al. COVID-19 transmission, current treatment, and future therapeutic strategies. **Molecular pharmaceuticals**, v. 18, n. 3, p. 754-771, 2021.

SHARMA, Omna et al. A Review of the Progress and Challenges of Developing a Vaccine for COVID-19. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 585354, 2020.

SHEWHART, W. Economic control of quality of manufactured product. **New York: D. Van Norstrand Co.** 1931.

SILVA JUNIOR, Jarbas Barbosa da. 40 anos do Programa Nacional de Imunizações: uma conquista da Saúde Pública brasileira. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 22, n. 1, p. 7-8, 2013.

SLAVOV, Svetoslav Naneev et al. Genomic epidemiology of the SARS-CoV-2 epidemic in Brazil. **Nature Microbiology**, 2022.

SOKOVIĆ, Mirko et al. Basic quality tools in continuous improvement process. **Journal of Mechanical Engineering**, v. 55, n. 5, p. 1-9, 2009.

SONG, Zhiqi et al. From SARS to MERS, thrusting coronaviruses into the spotlight. **viruses**, v. 11, n. 1, p. 59, 2019.

SUNGNACK, Waradon et al. SARS-CoV-2 entry genes are most highly expressed in nasal goblet and ciliated cells within human airways. **ArXiv**, 2020.

THOR, Johan et al. Application of statistical process control in healthcare improvement: systematic review. **BMJ Quality & Safety**, v. 16, n. 5, p. 387-399, 2007.

UDUGAMA, Buddhisha et al. Diagnosing COVID-19: the disease and tools for detection. **ACS nano**, v. 14, n. 4, p. 3822-3835, 2020.

VERCH, Thorsten; TRAUSCH, Jeremiah J.; SHANK-RETZLAFF, Mary. Principles of vaccine potency assays. **Bioanalysis**, v. 10, n. 3, p. 163-180, 2018

VICTORA, Cesar G. et al. Estimating the early impact of vaccination against COVID-19 on deaths among elderly people in Brazil: Analyses of routinely-collected data on vaccine coverage and mortality. **EClinicalMedicine**, v. 38, p. 101036, 2021.

VINING, Geoff. Technical Advice: Phase I and phase II control charts. **Quality Engineering**, v. 21, n. 4, p. 478-479, 2009.

WESTERN ELECTRIC COMPANY. **Statistical quality control handbook**. Western Electric Company, 1956.

WOODALL, William H. Controversies and contradictions in statistical process control. **Journal of quality technology**, v. 32, n. 4, p. 341-350, 2000.

WOODALL, William H. The use of control charts in health-care and public-health surveillance. **Journal of Quality Technology**, v. 38, n. 2, p. 89-104, 2006.

WU, Chaomin et al. Risk factors associated with acute respiratory distress syndrome and death in patients with coronavirus disease 2019 pneumonia in Wuhan, China. **JAMA internal medicine**, v. 180, n. 7, p. 934-943, 2020.

XU, Xintian et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. **Science China Life Sciences**, v. 63, n. 3, p. 457-460, 2020.

ZAHRADNIK, Jiri et al. Receptor binding and escape from Beta antibody responses drive Omicron-B. 1.1. 529 evolution. **BioRxiv**, 2021.

ZHOU, Daming et al. Evidence of escape of SARS-CoV-2 variant B. 1.351 from natural and vaccine-induced sera. **Cell**, v. 184, n. 9, p. 2348-2361. e6, 2021.