



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

SIMONE CRISTINA DE CARVALHO

AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS ASSOCIADOS  
À GRAVIDADE DA COVID-19 EM MULHERES

CURITIBA

2023

SIMONE CRISTINA DE CARVALHO

AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS ASSOCIADOS  
À GRAVIDADE DA COVID-19 EM MULHERES

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher do Setor de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Tocoginecologia e Saúde da Mulher.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Meri Bordignon  
Nogueira  
Coorientador: Dr. Samuel Ricardo Comar

CURITIBA

2023

C331 Carvalho, Simone Cristina de  
Avaliação clínico-laboratorial dos parâmetros hematológicos associados à gravidade da Covid-19 em mulheres. [recurso eletrônico] / Simone Cristina de Carvalho. - Curitiba, 2023.

Dissertação (mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Profa. Dra. Meri Bordignon Nogueira  
Coorientador: Prof. Dr. Samuel Ricardo Comar

1. COVID-19. 2. SARS-CoV-2. 3. Contagem de células sanguíneas. 4. Mulheres. 5. Comorbidades. I. Nogueira, Meri Bordignon II. Comar, Samuel Ricardo. III. Programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia e Saúde da Mulher. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE  
BIBLIOTECAS/UFPR BIBLIOTECA DE CIÊNCIAS DA SAÚDE, BIBLIOTECÁRIA:  
RAQUEL PINHEIRO COSTA JORDÃO CRB 9/991



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SETOR DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO PROGRAMA DE PÓS-  
GRADUAÇÃO TOCGINECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER - 40001016084P2

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação TOCGINECOLOGIA E SAÚDE DA MULHER da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **SIMONE CRISTINA DE CARVALHO** intitulada: **AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS ASSOCIADOS À GRAVIDADE DA COVID-19 EM MULHERES**, sob orientação da Profa. Dra. MERI

BORDIGNON NOGUEIRA, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 06 de Dezembro de 2023.

Assinatura Eletrônica 28/12/2023 15:25:45.0

MERI BORDIGNON NOGUEIRA  
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica 23/12/2023 01:45:33.0

KADIJA RAHAL CHRISOSTOMO  
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica 02/02/2024 11:23:08.0

MARIA DA GRAÇA BICALHO  
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

---

RUA GENERAL CARNEIRO, 181 - CURITIBA - Paraná - Brasil  
CEP 80060-900 - Tel: (41) 3525-6855 - E-mail: [pgtoco@ufpr.br](mailto:pgtoco@ufpr.br)

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 333535

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://siga.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 333535

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela minha saúde e por ter me dado força e paciência.

Agradeço aos meus Pais pelos esforços que sempre fizeram para me educar, às minhas irmãs, Lidiane e Gleiciane, que me incetivaram esse tempo todo e a meu marido, Gilson, pela paciência e pelo conforto nos momentos mais difíceis.

Às Doutoradas Meri Bordignon Nogueira e Sonia Mara Raboni pela sabedoria compartilhada no direcionamento durante a pesquisa e à residente Ludmilla Louise Moreira Amadeu por toda a assistência com a seleção e separação das amostras das pacientes do estudo.

Ao Doutor Samuel Ricardo Comar pela coorientação nesse projeto e por toda atenção despendida nas orientações para o progresso do estudo.

Às minhas amigas Líbia e Délia que sempre me socorreram nos momentos de desânimo e que mesmo de longe estiveram tão presentes.

Ao Laboratório Municipal de Curitiba pela parceria e apoio à pesquisa e aos meus colegas de trabalho do Laboratório de Hematologia pela paciência e companheirismo nessa jornada dupla de estudos e trabalho.

Às minhas parceiras de trabalho Diva e Jaqueline que sempre me incentivaram durante todo mestrado.

A toda equipe dos Laboratórios de Virologia e de Pesquisa que me acolheram e compartilharam conhecimento, incentivo e apoio ao estudo.

À contribuição dos Projetos de Pesquisa de diversos professores, em especial à Doutora Bruna Amaral Lapinski e ao Doutor Lucas Bochnia Bueno que por vezes auxiliaram neste processo.

A todos professores e ao Vinicius Machado Mikosz secretário do programa de Pós-Graduação em Tocoginecologia da Universidade Federal do Paraná pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos.

Ao Ricardo Rasmussen Petterle pela construção das análises estatísticas.

Ao Doutor Waldemar Volanski pelas aulas de estatísticas e toda disponibilidade para ensinar.

E por último, mas não menos importante, a todas as pacientes selecionadas para o estudo que doaram seu material biológico tão necessário para condução da pesquisa.

## RESUMO

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19) é caracterizada por uma infecção sistêmica causando desregulação no sistema imune por exacerbação à resposta ao vírus SARS-CoV-2 e impactando em outros sistemas como o sistema hematopoiético e na hemostasia. As alterações relacionadas à ambos sistemas podem ser mensuradas em exames de rotina laboratorial e auxiliam na distinção de casos com maior gravidade. O hemograma completo apresenta parâmetros celulares que direcionam o clínico não somente no momento do diagnóstico da doença, mas também durante sua evolução. Os parâmetros de dados da população celular (CPD) relatados pelo analisador XN (Sysmex, Kobe, Japão, 2023) refletem o tamanho e a complexidade interna dos leucócitos. Os CPD foram analisados em todas as pacientes doentes e classificados conforme a presença das principais comorbidades (Hipertensão Arterial Sistêmica, Diabetes Mellitus, pessoa com Obesidade), além disso foi analisada a genotipagem do SARS-CoV-2 das pacientes correlacionado com a gravidade. O objetivo principal do estudo foi avaliar a utilidade clínica desses parâmetros como biomarcadores para a triagem precoce da COVID-19 grave em mulheres. O grupo de estudo incluiu 100 amostras de mulheres para controle (sem alterações quantitativas ou morfológicas no hemograma completo) e 84 pacientes com diagnóstico de COVID-19 confirmados por transcrição reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-qPCR). O ponto de corte ideal dos parâmetros analisados para a triagem de gravidade da COVID-19 foi estabelecido por curvas ROC (do inglês, *Receiver Operating Characteristic Curve*) e as medianas para os CPD foram estabelecidas utilizando uma regressão logística multivariada, analisando dois tempos diferentes de coleta de amostra. Os tempos analisados correspondem a admissão e a alta hospitalar das pacientes, independentemente do desfecho. A linfopenia acentuada nos casos mais graves foi caracterizada pela diminuição dos parâmetros: LY-X; LY-Y que caracterizam os linfócitos e se apresentaram mais relevantes entre os CPD estudados na admissão de COVID-19 grave aplicando análise logística multivariada somada aos resultados obtidos nas curvas ROC comparando doentes moderados e graves. Outros parâmetros analisados na admissão hospitalar que demonstraram significância na diferenciação entre a doença moderada e grave foram: WBC (leucócitos), RNL (relação neutrófilo/linfócito) e D-dímero com  $p < 0,001$ . A classificação de gravidade foi estabelecida pela padronização internacional composta pelo conjunto dos principais critérios: oxigenação  $< 93\%$ , frequência respiratória  $\geq 24$  IRPM, hipotensão arterial e oligúria. Quando aplicado as curvas ROC nos parâmetros estudados em comparação entre doença moderada /grave, os seguintes parâmetros leucocitários: WNR-WY; NE-SSC; LY-X; LY-Y; NE-SFL; RNL; WNR-X apresentaram  $p < 0,05$  e  $p < 0,001$  para WBC.

Palavras-chave: COVID-19. SARS-CoV-2. Dados de população celular (CPD). Hemograma. Gravidade do paciente. Mulheres e comorbidades.

## ABSTRACT

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) is known to cause a systemic infection that can lead to immune system dysregulation due to an exacerbated response to the SARS-CoV-2 virus. Routine laboratory tests can help measure changes related to both systems and aid in distinguishing cases with greater severity. This can have an impact on other systems, such as the hematopoietic and hemostasis systems. The complete blood count provides cellular parameters that guide clinicians not only in the diagnosis of the disease but also during its progression. The cellular population data (CPD) parameters reported by the XN analyzer (Sysmex, Kobe, Japan, 2023) reflect the size and internal complexity of leukocytes. The study analyzed and classified the CPD of sick patients based on the presence of major comorbidities such as systemic arterial hypertension, diabetes mellitus, and obesity. It also analyzed the genotyping of SARS-CoV-2 in correlation with severity. The main objective of the study was to evaluate the clinical usefulness of these parameters as biomarkers for early screening of severe COVID-19 in women. The study group comprised of 100 female control samples, which did not exhibit any quantitative or morphological changes in the complete blood count. Additionally, the group included 84 patients who were diagnosed with COVID-19, confirmed by reverse transcription followed by real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR). The study established the ideal cutoff point for the analyzed parameters to screen for COVID-19 severity through the use of Receiver Operating Characteristic (ROC) curves. Median values for the cycle threshold (Ct) were determined using multivariate logistic regression, taking into account two different sample collection times: admission and hospital discharge, without regard to the outcome. In severe cases of COVID-19, there was a notable decrease in LY-X and LY-Y parameters, which are indicative of lymphocyte count. In severe cases of COVID-19, there was a notable decrease in LY-X and LY-Y parameters, which are indicative of lymphocyte count. These parameters were found to be more significant among the patients studied upon admission for severe COVID-19, as determined by multivariate logistic analysis and ROC curve comparison between moderate and severe cases. Other admission parameters that showed significance in differentiating between moderate and severe disease were WBC (white blood cells), RNL (neutrophil/lymphocyte ratio), and D-dimer with  $p < 0.001$ . Severity classification was established by the international standard composed of the main criteria: oxygenation  $< 93\%$ , respiratory rate  $\geq 24$  IRPM, arterial hypotension, and oliguria. When examining the ROC curves for the studied parameters in the comparison between moderate and severe disease, it was found that the leukocyte parameters WNR-WY, NE-SSC, LY-X, LY-Y, NE-SFL, RNL, and WNR-X showed statistical significance with p-values of less than 0.05 and 0.001 for WBC.

Keywords: COVID-19. SARS-CoV-2. Cell population data (CPD). Blood count. Patient severity. Women and comorbidity.

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CDC	- Centro para Controle e Prevenção de Doenças
CHC-UFPR	- Complexo Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná
CoV	- Coronavírus
COVID-19	- Doença do coronavírus 2019
CPD	- <i>Cell population data</i> (Dados de população celular)
ECA 2	- Enzima conversora da angiotensina 2
HB	- Hemoglobina
HCT	- Hematócrito ou Volume globular
IG	- Granulócito imaturo
LY-X	- Complexidade celular dos linfócitos
LY-Y	- Intensidade de fluorescência dos linfócitos
NE-SFL	- Intensidade de fluorescência de neutrófilos
NE-SSC	- Complexidade celular de neutrófilos
NRL	- Relação neutrófilos/linfócitos
OMS	- Organização Mundial da Saúde
ORF	- Quadro de leitura aberto
PCR	- Reação em cadeia da polimerase
PAHO	Organização Pan-Americana da Saúde
PLQ	- Plaquetas
RBC	- <i>Red blood cells</i> (Hemácias)
RDW	- Coeficiente de anisocitose
RNA	- Ácido Ribonucleico
RT-qPCR	- Transcrição reversa seguida pela reação em cadeia da polimerase em tempo real
ROC	- <i>Receiver Operating Characteristic Curve</i>
SARS-CoV-2	- Coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2
WBC	- <i>White blood cells</i> (Leucócitos)
WDF-WX	- Canal diferencial de leucócitos, complexidade e largura de dispersão

- WDF-WY - Canal diferencial de leucócitos, intensidade de fluorescência e largura de dispersão
- WHO - *World Health Organization*
- WNR-WX - Complexidade dos leucócitos e largura de dispersão dos eventos medidos
- WNR-WY - Intensidade de fluorescência dos leucócitos e largura de dispersão
- WNR-X - Canal de contagem de leucócitos e complexidade celular WNR-
- Y - Canal de contagem de leucócitos e intensidade de fluorescência

## LISTA DE FIGURAS

<b>FIGURA 1</b>	- REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SARS-CoV-2.....	18
<b>FIGURA 2</b>	- ESTÁGIOS DA DOENÇA, SINTOMAS E CONDUTAS COM A FASE CLÍNICA DA COVID-19 .....	23
<b>FIGURA 3</b>	- FLUXOGRAMA DAS AMOSTRAS INCLUÍDAS .....	34
<b>FIGURA 4</b>	- PRINCÍPIO DA IMUNOTURBIDIMETRIA.....	35
<b>FIGURA 5</b>	- ESQUEMA DA UNIDADE ÓPTICA DO ANALISADOR XN - 3100.....	36
<b>FIGURA 6</b>	- CITOMETRIA DE FLUXO FLUORESCENTE.....	37
<b>FIGURA 7</b>	- REPRESENTAÇÃO DO CANAL WNR.....	39
<b>FIGURA 8</b>	- REPRESENTAÇÃO DO CANAL WDF.....	40
<b>FIGURA 9</b>	- CURVA ROC WBC (Leucócitos).....	52
<b>FIGURA 10</b>	- CURVA ROC RNL (relação neutrófilo/linfócito) .....	53
<b>FIGURA 11</b>	- CURVA ROC D-DÍMERO.....	54
<b>FIGURA 12</b>	- CURVAS ROC WNR-WY,NE-SSC,LY-X,LY-Y.....	56
<b>FIGURA 13</b>	- CURVAS ROC NE-SFL,RNL,WNR-X,WBC .....	57

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

<b>QUADRO A</b>	- FATORES DE RISCO PARA COVID-19 .....	26
<b>QUADRO B</b>	- CRITÉRIOS DE GRAVIDADE DA INFECÇÃO POR SARS-CoV-2 .....	27
<b>QUADRO C</b>	- ANÁLISES GRAVIDADE/DESFECHO X COMORBIDADES .....	49
<b>QUADRO D</b>	- ANÁLISE GRAVIDADE X DESFECHO. ....	49
<b>QUADRO E</b>	- ANÁLISE CURVAS ROC COMPARAÇÕES PAREADAS COVID-19 .....	55
<b>TABELA 1</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA GRAVIDADE .....	44
<b>TABELA 2</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DESFECHO .....	45
<b>TABELA 3</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DO D-DÍMERO .....	46
<b>TABELA 4</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA WBC.....	47
<b>TABELA 5</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA RNL .....	48
<b>TABELA 6</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA CURVAS ROC CONTAGEM DE LEUCÓCITOS (WBC).....	52
<b>TABELA 7</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA CURVAS ROC COM RELAÇÃO NEUTRÓFILO/LINFÓCITO (RNL).....	53
<b>TABELA 8</b>	- ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA CURVAS ROC COM RELAÇÃO AO D-DÍMERO. ....	54

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	<b>16</b>
2.1 O SARS-CoV-2 E A COVID-19.....	16
2.1.1 Estrutura e características genómicas.....	17
2.2 PATOGENIA.....	19
2.2.1 Período de incubação.....	19
2.2.2 Transmissão viral .....	19
2.2.3 Mecanismo de infecção .....	19
2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS .....	21
2.3.1 Infecções assintomáticas.....	21
2.3.2 Gravidade da infecção sintomática.....	23
2.3.2.1 Espectro de gravidade e taxas de mortalidade.....	23
2.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL.....	27
2.4.1 Monitoramento laboratorial dos casos moderados/graves.....	30
<b>3 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>31</b>
<b>4 OBJETIVOS</b> .....	<b>32</b>
4.1 OBJETIVO GERAL .....	32
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	32
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>33</b>
5.1 CASUÍSTICA.....	33
5.1.1 Amostra.....	33
5.1.2 Critérios de inclusão e exclusão .....	34
5.1.3 Aspectos éticos.....	34
5.2 REVISÃO DOS PRONTUÁRIOS.....	35
5.3 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS APLICADOS .....	35
5.3.1 Método: Imunoturbidimetria - Dosagem do D-dímero .....	35
5.3.2 Método: Citometria de fluxo/ Impedância- hemograma completo e CPD .....	36
5.3.3 - Biologia Molecular- RT-qPCR e genotipagem.....	41
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	42
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
6.1 CURVAS ROC .....	50

<b>7 DISCUSSÃO.....</b>	<b>58</b>
7.1 GRAVIDADE.....	58
7.2 DESFECHO.....	60
7.3 DIABETES MELLITUS.....	61
7.4 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA.....	62
7.5 OBESIDADE.....	67
7.6 DPOC.....	68
7.7 GENOTIPAGEM.....	69
<b>8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....</b>	<b>70</b>
<b>9 PONTOS FORTES DO ESTUDO.....</b>	<b>71</b>
<b>10 CONCLUSÕES.....</b>	<b>72</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>73</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>90</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019 a cidade de Wuhan, província de Hubei, na República Popular da China registrou os primeiros casos de pacientes acometidos por uma infecção respiratória grave causada por um coronavírus até então desconhecido, o qual foi denominado temporariamente *de Novo Coronavírus 2019 (nCoV-19)*. O *Internacional Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)* foi convocado para definir a nomenclatura oficial desse microrganismo e decidiu que o nome deste novo coronavírus seria *Severe Acute Respiratory Syndrome – Related Coronavírus (SARS-CoV-2)* (WHO, 2020a; GORBALENYA *et. al.*, 2020). Em 11/02/2020 a *World Health Organization (WHO)* definiu a nomenclatura oficial para a “doença” causada por este vírus como *Coronavírus Disease-2019 (COVID-19)* (WHO, 2020a). Em 11/03/2020, a WHO decretou estado de pandemia para esta infecção, desde que a COVID-19 rompeu a fronteira geográfica da China avançando rapidamente para outros países longe do epicentro da epidemia (WHO, 2020a). Reafirmando seu elevado potencial de disseminação, até os dias atuais a COVID-19 contabilizou mais de 600 milhões de casos diagnosticados em 204 países, com mais de 14,9 mil óbitos (OPAS, 2022). O primeiro caso da infecção no Brasil foi registrado na cidade de São Paulo no dia 26/02/2020. Este primeiro paciente referia história de viagem recente para a região Norte da Itália, onde concentrava a maioria dos casos da COVID-19 naquele país. Ele foi controlado em domicílio, visto que o quadro respiratório era de moderada intensidade, com plena recuperação (SESA-SP, 2020).

No Brasil, o número de casos confirmados, até a data de 13/11/2023 é de 37.994.356 com 706.986 óbitos registrados sendo a maior concentração de casos e óbitos pertencentes ao Estado de São Paulo (MS, 2023). No estado do Paraná foram contabilizados até 13/11/2023 cerca de 2.963.916 casos confirmados e 46.482 óbitos sendo que na capital Curitiba, a secretaria municipal de saúde registrou no mesmo período mais de 610.400 casos confirmados e cerca de 8.800 óbitos (SESA-PR, SMS-CURITIBA, 2023).

Do início da pandemia até o momento várias estratégias profiláticas foram adotadas pelo Ministério da Saúde do Brasil para o pronto reconhecimento de possíveis casos da infecção pelo SARS-CoV-2. Também houve a publicação de inúmeros Boletins Epidemiológicos, a instalação do Centro de Operações de Emergência, a elaboração de protocolo assistencial e o reconhecimento desta

infecção como Emergência em Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) e nacional (ESPIN) (MS, 2020). Iguais esforços foram verificados nas Secretarias Estaduais e Municipais de Saúde no país como um todo.

A caracterização proposta pelas autoridades sanitárias baseada na sintomatologia da COVID-19 somada ao diagnóstico auxiliar dos exames de imagem foram cruciais no atendimento emergencial dos casos. Os parâmetros clínicos considerados foram: febre, sinais e sintomas de infecção pulmonar, além de alterações radiológicas pulmonares típicas deste acometimento (raios-X simples e tomografia). Na verdade, o tempo necessário para a realização de número tão elevado de testes (RT-qPCR) extrapolou a necessidade e a expectativa dos diagnósticos num primeiro momento. Além disso, conforme o número de casos aumentava alguns parâmetros laboratoriais comuns e presentes na maioria dos casos foram observados e utilizados como ferramentas auxiliares de diagnóstico, para diferenciação entre outras patologias e como caráter de monitoramento para a gravidade dos casos.

Segundo dados publicados anteriormente, o laboratório clínico pôde auxiliar na distinção de casos de COVID-19 com relação à outras infecções virais e na avaliação da gravidade da doença (LIPPI *et al.* 2020; HENRY *et al.*, 2020). Desde o início da pandemia do coronavírus algumas anormalidades laboratoriais foram mais proeminentes observadas e associadas à doença e, dentre estas alterações, estão a contagem de leucócitos variável acompanhada de linfopenia persistente, elevações de biomarcadores inflamatórios como proteína C reativa, procalcitonina e ferritina além do aumento considerável na dosagem do D-dímero indicando ação pró- trombótica e desregulação na hemostasia (HENRY *et al.*, 2020).

A grande maioria dos exames de sangue realizados de rotina atualmente empregam alta tecnologia em sua execução, contribuindo para a maior agilidade dos resultados e, conseqüentemente, para a alta produtividade em atender as crescentes demandas de saúde sejam elas emergenciais ou preventivas. Os novos analisadores automatizados hematológicos fornecem na execução do hemograma completo de rotina dados de população celular (CPD) na diferenciação de subpopulações de leucócitos quanto ao tamanho; conteúdo nuclear e inclusões citoplasmáticas. Esses dados celulares são parâmetros de análise e pesquisa obtidos aplicando-se diversas tecnologias embutidas no analisador hematológico como o espalhamento de luz, espectrometria de absorção, impedância elétrica, condutividade de radiofrequência e

citometria de fluxo, estando disponíveis nas medições de hemogramas automatizados realizados rotineiramente (COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS, 2015).

O presente estudo avaliou os parâmetros hematológicos e a dosagem do D-dímero em pacientes com COVID-19 e sua relação com a gravidade da doença, bem como com a presença de comorbidades, com o objetivo de contribuir na obtenção de valores de corte associados à gravidade.

## 2.1 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 O SARS CoV-2 E A COVID-19

O SARS-CoV-2 é um vírus RNA pertencente à família *Coronaviridae*, subgênero *Sarbecovirus* e a linhagem C do gênero *Betacoronavirus*, detectado pela primeira vez em amostras de lavado broncoalveolar obtidas de pacientes com pneumonia de causa desconhecida na cidade de Wuhan, província de Hubei, China, em dezembro de 2019 (GORBALENYA *et al.*, 2020; LU *et al.*, 2020). Sabe-se que os coronavírus formam uma grande família viral e são assim denominados em decorrência das espículas presentes na sua superfície (proteína S), dando-lhe o aspecto de coroa quando vistos ao microscópio eletrônico. Seu espectro fisiopatológico é vasto, causando desde um resfriado comum até síndromes respiratórias graves (CHEN *et al.*, 2020). Ao todo, sete coronavírus humanos (HCoVs) já foram identificados: HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-CoV (que causa síndrome respiratória aguda grave), MERS-COV (que causa síndrome respiratória do Oriente Médio) e, o mais recente, o SARS-CoV-2, que é o sétimo coronavírus conhecido a infectar seres humanos.

Este novo coronavírus apresenta 74% a 99% de identidade com o coronavírus do pangolim (*Manis javanica*) e morcego-ferradura (*Rhinolophus sinicus*) (Bat-CoVRaTG13), respectivamente (PERLMAN *et al.*; XIAO *et al.*, 2020). Baseado no sequenciamento do genoma do vírus resultados e análises evolutivas, foi sugerido que o SARS-CoV-2 é um coronavírus modificado de origem de morcego (ZHOU *et al.*, 2020), que chegou aos seres humanos como resultado da transmissão zoonótica (GORBALENYA, 2020). O pangolim é considerado um dos possíveis hospedeiros intermediários entre o morcego e o ser humano, porque o domínio de ligação ao receptor (RBD) do pangolin-CoV possui apenas a diferença de um aminoácido com o do SARS-CoV-2 (LI *et al.*, 2020). O animal também apresenta sintomas clínicos semelhantes ao humano e anticorpos circulantes no sangue que reagem com proteínas S do vírus (XIAO *et al.*; ZHANG *et al.*, 2020).

Por ser um vírus RNA traz consigo uma tendência maior de mutações e de disseminar-se com facilidade, frequentemente causando picos epidêmicos. Segundo as informações do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) da China, a

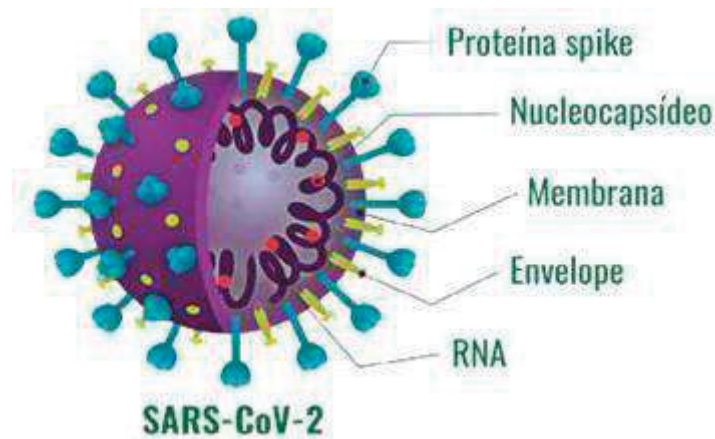
capacidade do SARS-CoV-2 de quebrar a barreira biológica e escapar do ciclo animal-animal passando a infectar seres humanos é o resultado de recombinações virais que lhe facultaram esse avanço. Entretanto, a transmissão entre humanos é que potencializa a característica epidêmica da infecção causada pelo SARS-CoV-2 (ZHU *et al.*, 2020) a exemplo das epidemias causadas tanto pelo SARS-CoV quanto pelo MERS-CoV (ZHONG *et al.*, 2003; CDC, 2013).

### 2.1.1 Estrutura e características genômicas

Os coronavírus são divididos em quatro gêneros, incluindo  $\alpha$ - /  $\beta$ - /  $\gamma$ - /  $\delta$ -CoV. Os vírus pertencentes aos gêneros  $\alpha$ - e  $\beta$ -CoV são capazes de infectar mamíferos, enquanto o  $\gamma$  e  $\delta$ -CoV tendem a infectar as aves. Seis CoVs foram identificados como vírus suscetíveis a humanos, entre os quais quatro foram considerados de baixo risco patogênico por levarem a sintomas respiratórios leves, semelhantes a um resfriado comum, sendo dois do gênero alfa (HCoV229E e HCoV-NL63); e dois do gênero beta (HCoVHKU1 e HCoV-OC43). Os outros pertencem ao gênero  $\beta$ -CoV (SARS-CoV e MERS-CoV), sendo considerados de alto risco patogênico por estarem associados com infecções potencialmente fatais do trato respiratório (YIN, 2018). O SARS-CoV-2 também pertence ao gênero *Betacoronavirus*, que são vírus envelopados com um diâmetro de 60-140 nm (ZHU *et al.*, 2020). Apresentam um genoma de RNA de fita simples de sentido positivo, relativamente grande, de 29,9 kb de tamanho e regiões 5' e 3' terminais, com um total de seis a dez genes entre elas (WIT *et al.*, 2016). Dois terços do RNA viral dos *BetaCoronavirus* que estão localizados principalmente na primeira fase aberta de leitura, do inglês, *Open Reading Frame* (ORF), (ORF1a/b), codificam a tradução de duas grandes poliproteínas, a pp1a e pp1ab. Essas poliproteínas são proteoliticamente clivadas em 16 proteínas não estruturais (nsp1-nsp16), que compõe o complexo viral replicase-transcriptase, incluindo protease do tipo papaína (PLpro), protease do tipo 3C (3CLpro), RNA polimerase dependente de RNA (RdRp), helicase (Hel) e exonuclease (ExoN) (SNIJDER *et al.*, 2006). As ORFs restantes codificam proteínas acessórias e estruturais. O genoma viral codifica quatro proteínas estruturais essenciais, incluindo, glicoproteínas de espícula (S), proteínas do envelope (E), de membrana ou matriz (M) e proteínas do nucleocapsídeo fosforiladas (N).

Além destas, há várias proteínas acessórias que não estão envolvidas na replicação viral, mas interferem na resposta imune inata do hospedeiro, comportando função desconhecida ou pouco compreendida (WIT *et al.*, 2016).

**FIGURA 1 – REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DO SARS-COV-2**



FONTE: Adaptado de Santos *et al.* (2020).

A natureza instável dos vírus RNA e as constantes pressões seletivas de evolução evidenciam a importância da vigilância contínua de SARS-CoV-2 de humanos ou animais para o controle da doença (JIN *et al.*, 2020).

Os coronavírus são uma grande família de vírus comuns em muitas espécies diferentes de animais, incluindo o homem, camelos, gado, gatos e morcegos (MS, 2021). Eles são a segunda principal causa de resfriado comum (após rinovírus) e, até as últimas décadas, raramente causavam doenças mais graves em humanos além do resfriado comum (PAHO, 2020).

Algumas epidemias de doenças causadas por coronavírus já foram registradas em humanos e animais, com gravidade variável e na maioria delas de caráter limitado geograficamente. Previamente a 2019, duas epidemias de maior gravidade relacionadas com os coronavírus foram observadas. A primeira delas ocorreu na China em 2002 e caracterizou-se por graves infecções respiratórias causadas pelo *Severe Acute Respiratory Syndrome – Coronavirus*, sendo nomeado de SARS-CoV (ZHONG *et al.*, 2003).

O segundo pico epidêmico de Síndrome Respiratória Aguda e Severa causado por um coronavírus ocorreu no Oriente Médio em 2012 e o vírus foi denominado *Middle East Respiratory Syndrome – Coronavírus* (MERS-CoV)(CDC, 2013).

A COVID-19 é uma infecção respiratória aguda causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, potencialmente grave, de elevada transmissibilidade e de distribuição global (MS, 2021).

## 2.2 PATOGENIA

### 2.2.1 Período de incubação

De acordo com as ponderações do CDC dos EUA, o período de incubação do SARS-CoV-2 para a infecção entre humanos varia de 2 a 14 dias (CDC, 2019). Este tem sido o padrão que orienta o período de quarentena na maioria das situações em que esta estratégia foi ou está sendo instituída.

### 2.2.2 Transmissão viral

Do ponto de vista epidemiológico é fundamental o entendimento das formas de disseminação viral para se organizar as estratégias de enfrentamento a doença. Considerando as orientações do CDC e do MS a forma de disseminação mais efetiva do SARS-CoV-2 se dá por meio de secreções e excreções respiratórias veiculadas direta ou indiretamente por: espirro, tosse, contato pessoal direto ou próximo com pessoa infectada (< 1-2 metros em sala fechada, sem equipamento de segurança), colocar objeto contaminado à boca, olhos ou nariz , levar a mão à boca antes de higienização adequada principalmente após cumprimentar pessoas infectadas ou tocar em superfícies ou objetos contaminados (MS, 2020; CDC, 2019; WHO, 2020).

### 2.2.3 Mecanismo de infecção

A infecção mediada por SARS-COV2 depende da ligação do domínio S1 viral ao ACE2 e sua clivagem pela serina protease transmembrana 2 (TMPRSS2), enquanto o domínio S2 viral é responsável por alterações conformacionais que impulsionam o processo de fusão entre vírus e membranas celulares hospedeiras (BREST *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020a).

Esses eventos são seguidos pela entrada do vírus e sua replicação nas células (DEVAUX *et al.*, 2020; WANG *et al.*, 2020a). No entanto, outros fatores moleculares têm sido implicados como essenciais não apenas para a entrada viral, mas principalmente para os efeitos celulares progressivos da infecção, como a proteína 17 contendo o domínio de metaloproteinase ancorada à membrana (ADAM 17), que evoca o mecanismo de liberação de ACE2 (BREST *et al.*, 2020; GHEBLAWI *et al.*, 2020). A ligação do vírus induz a deficiência de ACE2, amplificando a desregulação entre o receptor ACE-Ang1-7-Mas, pois, há uma redução nas propriedades catalíticas da ACE2 favorecendo a ECA-Ang II-AT1 via receptor. Além disso, o desequilíbrio do sistema renina-angiotensina-aldosterona evoca efeitos prejudiciais pronunciados em todos os estágios da COVID-19, uma vez que a falência de múltiplos órgãos e uma resposta hiperinflamatória são os principais achados clínicos em casos graves (MAHMUDPOUR *et al.*, 2020). A desregulação do eixo ACE2/Ang II/AT1R, a atenuação do eixo receptor ACE2/Mas e o aumento da ativação da via ACE2/bradicinina B1R/DABK e suas cascatas complementares são as principais interações moleculares que sustentam a tempestade de citocinas (HIRANO; MURAKAMI, 2020; MAHMUDPOUR *et al.*, 2020). Uma vez que o vírus se liga a ACE2, essa enzima não converte Ang II em Ang 1-7, impossibilitando a ativação do MasR e a formação do complexo de controle da inflamação. Na ausência de Ang 1-7, ocorre também aumento da expressão das vias p38 MAPK e NFK- $\beta$  e de fatores inflamatórios, bem como a ligação da Ang II ao receptor AT1R, desencadeando respostas pró-inflamatórias e, como resultado, a deterioração pulmonar (GHEBLAWI *et al.*, 2020; MAHMUDPOUR *et al.*, 2020; SOUTH *et al.*, 2020).

A comprovação de que o complexo SARS-CoV-2/proteína S ativada (superfície viral) usa com muita eficiência o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA ou ACE2) para entrar nas células do sistema respiratório dá subsídios para entender a disseminação rápida do SARS-CoV-2 entre humanos (confirma a via aérea como via de entrada) e a gravidade dos casos visto que é a concentração destes receptores de forma elevada nos pulmões (HOFFMANN *et al.*, 2020; WALLS *et al.*, 2020). Conhecer este mecanismo da infecção é fundamental para indicar alvos alternativos de terapia, seja inibindo farmacologicamente os receptores ACE1/ACE2 ou mesmo inativando a proteína S com anticorpos monoclonais (GURWITZ, 2020).

## 2.3 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O quadro clínico da COVID-19 é bastante variável, visto que muitos pacientes infectados podem ser assintomáticos. Dentre os sintomáticos a febre e a tosse são os principais sintomas, mas o paciente também pode apresentar congestão nasal, coriza, dispneia de intensidade progressiva, dor torácica, sinais de baixa oxigenação por insuficiência respiratória e choque nos casos de pior evolução (ZHU *et al.*, 2020; CDC, 2019). Entre outros sintomas, foi verificado que muitos pacientes também apresentam maior frequência de manifestações gastrointestinais como a diarreia (OGASSAWARA *et al.*, 2021).

### 2.3.1 Infecções assintomáticas

Infecções assintomáticas foram bem documentadas (MIZUMOTO *et al.*, 2020; ORAN *et al.*, 2020). Uma revisão realizada antes da introdução da vacinação contra COVID-19 estimou que 33% das pessoas com infecção por SARS-CoV-2 nunca desenvolvem sintomas (ORAN *et al.*, 2021). Essa estimativa foi baseada em quatro grandes pesquisas transversais de base populacional, entre as quais a proporção média de indivíduos que não apresentavam sintomas no momento de um teste positivo foi de 46% (intervalo de 43 a 77%) e em 14 estudos longitudinais, entre os quais uma mediana de 73% dos indivíduos inicialmente assintomáticos permaneceu assim no acompanhamento (ORAN *et al.*, 2021). Uma metanálise com 95 estudos chineses e americanos cobrindo quase 30 milhões de indivíduos testados (incluindo algumas crianças) descobriu que 40,5% (IC 95% 33,5-47,5%) dos indivíduos infectados por SARS-CoV-2 eram assintomáticos (MA *et al.*, 2021). No entanto, ainda há alguma incerteza em torno da proporção de infecções assintomáticas, com uma ampla variedade relatada nos estudos. Além disso, a definição de "assintomático" pode variar entre os estudos, dependendo de quais sintomas específicos foram avaliados. A variedade de achados em estudos que avaliam infecções assintomáticas é refletida nos seguintes exemplos:

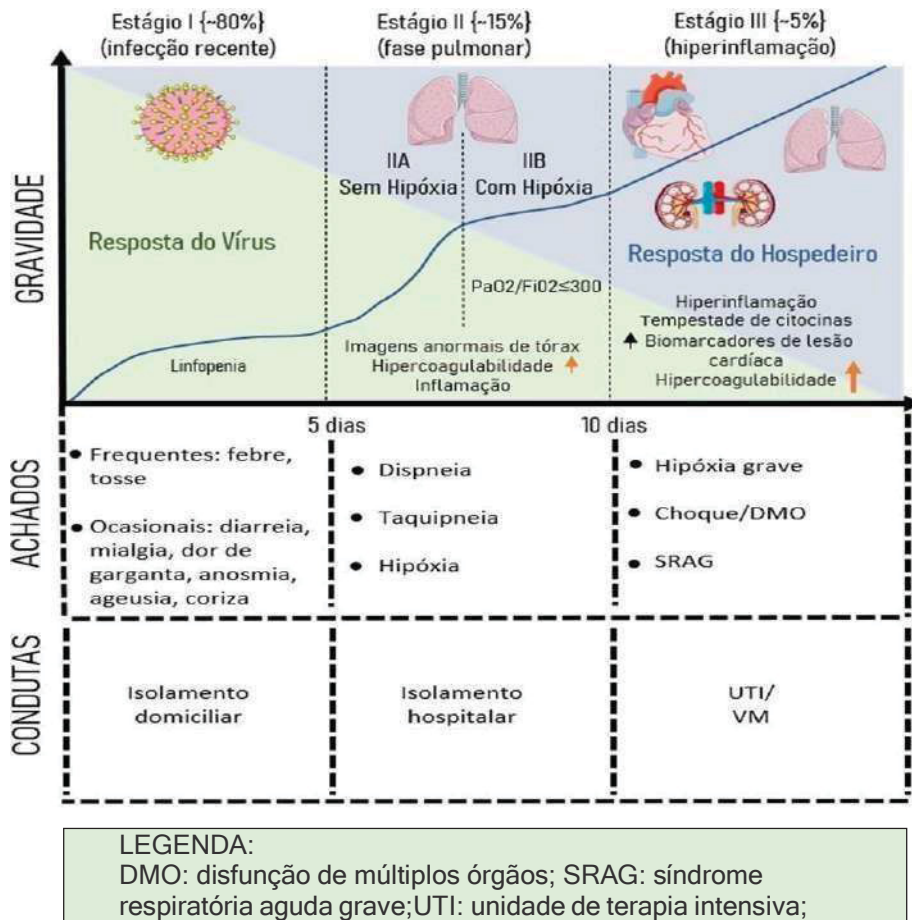
Em um surto de COVID-19 em um navio de cruzeiro, onde quase todos os passageiros e funcionários foram rastreados para SARS-CoV-2, aproximadamente 19% da população a bordo apresentou teste positivo; 58% dos 712 casos confirmados de COVID-19 eram assintomáticos no momento do diagnóstico (NIID JAPÃO, 2020; SAKURAI *et al.*, 2020). Em estudos de subgrupos desses indivíduos assintomáticos, que foram hospitalizados e monitorados, aproximadamente 77 a 89 por cento permaneceram assintomáticos ao longo do tempo (SAKURAI *et al.*, 2020; TABATA *et al.*, 2020). Em um surto menor de COVID-19 em uma unidade de enfermagem qualificada, 27 dos 48 residentes (56%) que tiveram um teste de triagem positivo eram assintomáticos no momento do diagnóstico, mas 24 deles desenvolveram sintomas nos sete dias seguintes (ARONS *et al.*, 2020).

Outros estudos, particularmente aqueles realizados em populações mais jovens, relataram maiores proporções de infecções assintomáticas (SUTTON *et al.*, 2020; BAGGETT *et al.*, 2020; LETIZIA *et al.*, 2020). Como exemplo, em um surto em um porta-aviões, um quarto da tripulação, com média de idade de 27 anos, testou positivo para SARS-CoV-2 (KASPER, 2020). Entre os 1.271 casos, apenas 22% eram sintomáticos no momento do teste e 43% permaneceram assintomáticos durante todo o período de observação. Altas taxas de infecção assintomática também foram relatadas entre mulheres grávidas que se apresentaram para o parto (SUTTON *et al.*, 2020; CAMPBELL *et al.*, 2020).

Pacientes com infecção assintomática podem apresentar anormalidades clínicas objetivas (WANG *et al.*, 2020; HU *et al.*, 2020). Como exemplo, em um estudo de 24 pacientes com infecção assintomática que foram submetidos a tomografia computadorizada (TC) de tórax, 50% apresentavam opacidades em vidro fosco típicas ou sombras irregulares e outros 20% apresentavam anormalidades de imagem atípicas (HU *et al.*, 2020). Cinco pacientes desenvolveram febre baixa, com ou sem outros sintomas típicos, alguns dias após o diagnóstico. Em outro estudo de 55 pacientes com infecção assintomática identificada por rastreamento de contato, 67% tinham evidência de pneumonia por TC na admissão; apenas dois pacientes desenvolveram hipóxia e todos se recuperaram (WANG *et al.*, 2020).

Como acima, alguns indivíduos que são assintomáticos no momento do diagnóstico desenvolvem sintomas (ou seja, eles eram realmente pré-sintomáticos). Em um estudo, o início dos sintomas ocorreu em mediana de quatro dias (intervalo de três a sete) após o teste inicial de RT-qPCR positivo (SAKURAI *et al.*, 2020).

**FIGURA 2 - ESTÁGIOS DA DOENÇA, SINTOMAS E CONDUTAS COM A FASE CLÍNICA DACOVID-19**



FONTE: Adaptado do Ebook COVID-19, imunidade, endotélio e coagulação: compreenda a interação (2020).

### 2.3.2 Gravidade da infecção sintomática

#### 2.3.2.1 Espectro de gravidade e taxas de mortalidade

Espectro de gravidade da infecção — O espectro da infecção sintomática varia de leve a crítico; a maioria das infecções não é grave (HUANG *et al.*, 2020; STOKES *et al.*, 2020). Especificamente, um relatório do Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças (WU *et al.*, 2020), durante os primeiros meses da pandemia incluiu aproximadamente 44.500 infecções confirmadas e encontrou o seguinte: doença leve (sem ou pneumonia leve) foi relatada em 81%; doença grave (com dispneia, hipóxia ou > 50% de envolvimento pulmonar na imagem dentro de 24 a 48 horas) em 14 %; doença crítica (com insuficiência respiratória, choque ou disfunção de múltiplos

órgãos) em 5 %; e, a taxa geral de mortalidade de casos foi de 2,3% no mesmo período.

Da mesma forma, em um relatório de 1,3 milhão de casos relatados ao CDC, dos Estados Unidos, até o final de maio de 2020, 14% foram hospitalizados, 2% foram admitidos na unidade de terapia intensiva (UTI) e 5 % morreram (STOKES *et al.*, 2020). O risco individual de doença grave varia de acordo com a idade, comorbidades subjacentes e estado de vacinação (THOMPSON *et al.*, 2021; HAAS *et al.*, 2021; VASILEIOU *et al.*, 2021; DAGAN *et al.*, 2021; MCNAMARA *et al.*, 2022; IOANNOU *et al.*, 2021; TENFORDE *et al.*, 2022; HAVERS *et al.*, 2022).

Além disso, diferentes variantes do SARS-CoV-2 foram associadas a riscos variados de doença grave. Como exemplo, a variante Ômicron (B.1.1.529) parece estar associada a doenças mais leves (ABDULLAH *et al.*, 2022; MASLO *et al.*, 2022; MENNI *et al.*, 2022).

Taxas de mortalidade por infecção — A taxa de mortalidade de casos indica apenas a taxa de mortalidade entre os casos documentados. Como muitas infecções por SARS-CoV-2 são assintomáticas e muitas infecções leves não são diagnosticadas, a taxa de mortalidade por infecção (ou seja, a taxa de mortalidade estimada entre todos os indivíduos com infecção) é consideravelmente menor e foi estimada em algumas análises de indivíduos não vacinados para estar entre 0,15 e 1 %, com heterogeneidade substancial por localização e entre grupos de risco (CDC, 2020; WHO, 2020; MEYEROWITZ *et al.*, 2020; IOANNIDIS *et al.*, 2021).

Taxas de mortalidade entre pacientes hospitalizados — Entre os pacientes hospitalizados, o risco de doença crítica ou fatal é alto entre indivíduos não vacinados (RICHARDSON *et al.*, 2020; SULEYMAN *et al.*, 2020), e a taxa de mortalidade hospitalar associada ao COVID-19 é maior do que a da gripe (CATES *et al.*, 2020; VERMA *et al.*, 2021). Como exemplo, em uma pesquisa nos Estados Unidos com mais de 16.000 pacientes hospitalizados por COVID-19, entre março e dezembro de 2020, a taxa de mortalidade foi de 11,4% no geral e variou mensalmente de 7,1 a 17,1% (GARG *et al.*, 2021). Ao longo da pandemia, as taxas de mortalidade hospitalar em declínio foram relatadas, mesmo antes da vacinação generalizada (DENNIS *et al.*, 2021; NGUYEN *et al.*, 2021). As razões para essa observação são incertas, mas as possíveis explicações incluem melhorias no atendimento hospitalar da COVID-19 e melhor alocação de recursos quando os hospitais não estão sobrecarregados.

Fatores de risco para doença grave — A doença grave pode ocorrer em indivíduos saudáveis de qualquer idade, mas ocorre predominantemente em adultos com idade avançada ou com certas comorbidades médicas subjacentes. Características demográficas específicas e anormalidades laboratoriais também foram associadas à doença grave.

Aumento da idade — Indivíduos de qualquer idade podem adquirir a infecção por SARS-CoV-2, embora adultos de meia-idade e mais velhos sejam mais comumente afetados e os mais velhos sejam mais propensos a ter doença grave.

A idade avançada também está associada ao aumento da mortalidade (WU *et al.*, 2020; YANG *et al.*, 2020; IOANNIDIS 2021; COVID-19 FORECASTING TEAM, 2022; VERITY *et al.*, 2020; ONDER *et al.*, 2020). Em um relatório do CDC Chinês, as taxas de mortalidade de casos foram de 8 e 15% entre aqueles com idade entre 70 e 79 anos e 80 anos ou mais, respectivamente, em contraste com a taxa de mortalidade de 2,3% entre toda a coorte (YANG *et al.*, 2020). Em uma análise do Reino Unido, o risco de morte entre indivíduos com 80 anos ou mais foi 20 vezes maior que entre indivíduos de 50 a 59 anos (ONDER *et al.*, 2020).

Nos Estados Unidos, 2.449 pacientes diagnosticados com COVID-19 entre 12 de fevereiro e 16 de março de 2020 tinham informações sobre idade, hospitalização e UTI disponíveis (WILLIAMSON, 2020); do total de casos, 67 % foram diagnosticados em pessoas com idade  $\geq$  45 anos e, semelhante aos achados da China, a mortalidade foi maior entre indivíduos mais velhos, com 80% das mortes ocorrendo em pessoas com idade  $\geq$  65 anos. Em contraste, indivíduos de 18 a 34 anos representaram apenas 5% dos adultos hospitalizados por COVID-19 em um grande estudo de banco de dados de saúde e tiveram uma taxa de mortalidade de 2,7%; obesidade mórbida, hipertensão e sexo masculino foram associados à mortalidade nessa faixa etária (CDC COVID-19 RESPONSE TEAM, 2020).

Comorbidades — Múltiplas comorbidades e condições subjacentes têm sido associadas a doenças graves (ou seja, infecção resultando em hospitalização, admissão na UTI, intubação ou ventilação mecânica ou morte) (YANG *et al.*, 2020; CUMMINGS *et al.*, 2020; ONDER *et al.*, 2020; CDC COVID-19 RESPONSE TEAM, 2020; KOMPANIYETS *et al.*, 2021).

Embora a doença grave possa ocorrer em qualquer indivíduo, a maioria dos pacientes com doença grave tem pelo menos um fator de risco. Em um relatório de

355 pacientes que morreram com COVID-19 na Itália, o número médio de comorbidades pré-existentes foi de 2,7 e apenas 3 pacientes não tinham condição subjacente (VERITY *et al.*, 2020).

Entre os pacientes com idade avançada e comorbidades médicas, a COVID-19 é frequentemente grave. Por exemplo, em um surto de SARS-CoV-2 em várias instituições de longa permanência no estado de Washington (EUA), a média de idade dos 101 residentes afetados foi de 83 anos e 94% tinham uma condição crônica subjacente; as taxas de hospitalização e fatalidade de casos preliminares foram de 55 e 34 %, respectivamente (LOWE, 2021). Em uma análise de quase 300.000 casos confirmados de COVID-19 relatados nos Estados Unidos, a taxa de mortalidade foi 12 vezes maior entre pacientes com comorbidades relatadas em comparação com aqueles sem nenhuma (WU *et al.*, 2020).

#### QUADRO A - FATORES DE RISCO PARA COVID-19

Fatores de risco estabelecidos, prováveis e possíveis (comorbidades que foram associadas a COVID-19 grave em pelo menos 1 meta-análise ou revisão sistemática, em estudos observacionais ou em séries de casos):

- ✓ Idade ≥ 65 anos
- ✓ Câncer
- ✓ Doença cerebrovascular
- ✓ Doença renal crônica
- ✓ Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC)
- ✓ Asma
- ✓ Doença hepática crônica
- ✓ Fibrose cística
- ✓ Diabetes mellitus tipo 1 e tipo 2
- ✓ Hipertensão Arterial Sistêmica
- ✓ Condições cardíacas (como insuficiência cardíaca, cardiomiopatias)
- ✓ HIV (vírus da imunodeficiência humana)
- ✓ Transtornos de saúde mental (transtornos de humor, depressão)
- ✓ Condições neurológicas (demência)
- ✓ Pessoa com Obesidade
- ✓ Inatividade física
- ✓ Gravidez ou puerpério
- ✓ Imunodeficiências primárias
- ✓ Tabagismo
- ✓ Doença falciforme ou talassemia
- ✓ Transplante de órgãos sólidos ou células-tronco sanguíneas

FONTE: Adaptado do CDC (2022).

## QUADRO B – CRITÉRIOS DE GRAVIDADE DA INFECÇÃO POR SARS-CoV-2

Para definição de caso grave o paciente deve apresentar pelo menos uma das alterações citadas a seguir:

Frequência respiratória  $\geq 24$  IRPM

Saturação de O<sub>2</sub>  $< 93\%$

Sem melhora da saturação de O<sub>2</sub> apesar da oferta de oxigênio

Hipotensão arterial

Alteração do tempo de enchimento capilar

Alteração do nível de consciência

Oligúria

FONTE: Recomendações da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, Resolução SS-28 de 17/03/2020.

### 2.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial da COVID-19 é feito principalmente pela detecção direta do RNA do SARS-CoV-2 por testes de amplificação de ácido nucleico (NAATs), mais comumente a reação em cadeia da polimerase em tempo real, após transcrição reversa (RT-qPCR) em amostras do trato respiratório superior (PATEL *et al.*, 2020; FANQ F.C. *et al.*, 2020). Vários ensaios de RT-qPCR são usados em todo o mundo; diferentes ensaios amplificam e detectam diferentes regiões do genoma do SARS-CoV-2. Alguns têm como alvo dois ou mais genes, incluindo os genes que codificam proteínas do nucleocapsídeo (N), envelope (E) e *spike* (S), e regiões no primeiro quadro aberto de leitura, incluindo o gene da RNA polimerase dependente de RNA (RdRp) (OMS, 2020). Outros tipos menos comuns de NAAT incluem amplificação isotérmica RT-LAMP, ensaios baseados em CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) e sequenciamento de nova geração (IOUNQ *et al.*, 2020; RAUCH *et al.*, 2021).

Segundo a orientação oficial do Ministério da Saúde para estados e municípios brasileiros, as amostras de orofaringe e nasofaringe (coletadas por *swab* ou lavagem) e aquelas coletadas por lavado brônquico ou broncoalveolar deverão ser coletadas entre o 3º até o 7º dia do aparecimento da doença, critério esse em consenso com os CDCs internacionais (CDC USA, 2003; WHO, 2020). Os testes de antígeno podem ser alternativas úteis ao NAAT para o diagnóstico de indivíduos sintomáticos de SARS-CoV-2 que se acredita estarem nos estágios iniciais da infecção (OMS, 2020; IDSA, 2021). Nesses casos, o teste deve ser realizado nos primeiros cinco a sete dias de sintomas.

Embora o teste de antígeno não possa detectar o vírus em níveis tão baixos quanto o NAAT, sua sensibilidade é melhorada nos primeiros dias de sintomas, quando a replicação do vírus é mais alta.

Os marcadores biológicos não específicos, porém, mais utilizados para triagem prognóstica da COVID-19 são a proteína C reativa (PCR), a procalcitonina (PCT), a ferritina, o dímero-D e a linfopenia.

Dadas as limitações dos biomarcadores mencionados acima, uma grande variedade de novos marcadores relacionados a parâmetros hematológicos ou à resposta imune inflamatória do hospedeiro foi proposta nos últimos anos para doenças infecciosas (KLEBANOFF, 2005). Diversos estudos relatam a utilidade dos CPD como biomarcadores precoces de septicemia. No entanto, nenhum desses marcadores pode ser recomendado como critério único para o prognóstico da COVID-19, e os especialistas recomendam o uso de uma combinação de parâmetros biológicos associados à parâmetros clínicos e exames de imagem para compor o escore de gravidade da doença. Outros estudos abordam a utilização desses marcadores como diferenciais de casos de bacteremia, septicemia e choque séptico. Além disso, os CPD são de valiosa utilidade na diferenciação de doenças hematológicas.

O hemograma completo é amplamente utilizado para diagnosticar uma infecção aguda. Os analisadores de sangue modernos fornecem uma contagem diferencial de leucócitos precisa e exata de maneira rápida e econômica (FURUNDARENA JR *et al.*, 2010). A técnica empregada por esses analisadores utiliza a citometria de fluxo para medir células individuais: a contagem diferencial de leucócitos é baseada nos critérios de granularidade celular (luz de dispersão lateral), volume e forma celular (luz de dispersão frontal) e teor de ácido nucleico/proteína das células (intensidade de luz fluorescente), por pré-incubação com reagentes surfactantes exclusivos e coloração por fluorescência. Estes sinais ópticos de diferencial de leucócitos são apresentados nos três eixos do diagrama de dispersão do canal de fluorescência diferencial de glóbulos brancos (URRECHAGA *et al.*, 2018).

Esta tecnologia sofisticada assegura que dados de população de células de parâmetros de pesquisa (CPD) sejam incluídos junto com o hemograma completo básico.

A composição da membrana das células ativadas difere daquela das células inativadas devido à expressão de moléculas sinalizadoras e receptores como resposta à ativação. Essas membranas são mais suscetíveis à maior absorção dos reagentes e, portanto, mais corante fluorescente pode penetrar em uma célula ativada e ligar organelas do citoplasma e ácidos nucleicos (URRECHAGA *et al.*, 2018).

Os CPD fornecem informações quantitativas sobre as características morfológicas e funcionais de neutrófilos, monócitos e linfócitos, permitindo assim um estudo mais detalhado das células e quaisquer variações morfológicas, em resposta a vários estímulos, como infecções, a serem detectadas, oferecendo assim informações valiosas sobre o *status* de ativação da célula (BUORO *et al.*, 2016; URRECHAGA *et al.*, 2018).

Na hemostasia é utilizada a dosagem de D-dímero como marcador de hipercoagulabilidade sanguínea, principalmente nos estágios iniciais da doença com o intuito de triar casos de gravidade da COVID-19 que necessitem de suporte hospitalar. O Dímero é considerado um teste sanguíneo de *screening* para trombose venosa; tromboembolismo pulmonar; septicemia e para COVID-19 com elevada sensibilidade e baixa especificidade relativa. (DA SILVA, 2015).

A identificação de alterações do D-dímero tem como principal objetivo orientar a internação e o tratamento dos pacientes com anticoagulantes a fim de evitar a trombose dos alvéolos. Isso porque, o Dímero é um produto formado no processo de degradação da fibrina (principal componente dos coágulos sanguíneos) e o aumento de sua concentração na triagem dos pacientes sintomáticos está diretamente relacionada à gravidade da COVID-19 (THACHIL *et al.*, 2020).

O processo inflamatório que envolve o endotélio vascular alveolar, mesmo nos estágios iniciais, pode desencadear a formação de coágulos pulmonares.

Diversas pesquisas abordam a relação entre o desfecho desfavorável para a COVID-19 associada com a elevação do Dímero, principalmente na admissão hospitalar correlacionando com a gravidade da doença e aumento da mortalidade (MALIK *et al.*, 2020; MILLER, 2021; NUGROHO, 2021).

#### 2.4.1 Monitoramento laboratorial dos casos moderados/graves

O laboratório de análises clínicas desempenha papel fundamental no diagnóstico rápido da COVID-19, mas também no monitoramento e prognóstico de complicações adjuntas à doença. Além da detecção do vírus por RT-qPCR, os testes de rotina laboratorial para pacientes submetidos à internação hospitalar reportam o estado clínico do paciente, sua evolução e prognóstico diante das complicações subjacentes à infecção pelo coronavírus. Dados publicados mostram que muitos testes laboratoriais usados rotineiramente podem auxiliar na distinção de casos de COVID-19 de outras infecções virais ou condições que apresentam sintomatologia semelhante, bem como na avaliação da gravidade da doença (LIPPI *et al.*, 2020). Desde o início da pandemia causada pelo SARS-CoV-2 as anormalidades laboratoriais mais proeminentes observadas associadas à COVID-19 foram alterações no hemograma completo com contagem de leucócitos variável acompanhada por linfopenia persistente, elevações de biomarcadores inflamatórios e desregulação do sistema de coagulação (HENRY *et al.*, 2020).

As novas tecnologias empregadas nos grandes laboratórios de apoio diagnóstico apresentam técnicas automatizadas de alta qualidade e eficiência contribuindo não só para o diagnóstico rápido, mas também como ferramenta de monitoramento e pesquisa clínica.

No laboratório de Hematologia os analisadores de parâmetros hematológicos automatizados mais modernos fornecem diferenciação de subpopulações de leucócitos de acordo com as diferenças em suas granularidades, tamanho e conteúdo de ácido nucleico. Os dados da população celular (CPD) são parâmetros de fundo derivados de sinais ópticos durante a contagem diferencial de leucócitos que refletem características morfológicas e funcionais de neutrófilos, linfócitos e monócitos e estão prontamente disponíveis com todas as medições de hemograma completo realizadas rotineiramente (BUORO *et al.*, 2016).

Na Hemostasia os analisadores coagulométricos de última geração proporcionam além de exatidão e reprodutibilidade de testes, agilidade na liberação dos resultados pois possuem mais de uma metodologia diagnóstica disponível no software. Com até 10 canais individuais para métodos coagulométricos, cromogênicos, imunoenaios e de agregação com 10 poços (função de mistura

usando barras de agitação possíveis para 4 poços) Fotometria simultânea de cinco comprimentos de onda em todos os canais do detector (comprimentos de onda de 340, 405, 575, 660 e 800 nm).

### **3 JUSTIFICATIVA**

O presente estudo foi proposto em função da necessidade de compreender a evolução clínica em conjunto com as manifestações associadas à gravidade da doença e avaliar a taxa de recuperação de casos graves em mulheres. Diante da alta taxa de mortalidade em decorrência da COVID-19 associada às comorbidades, o estudo avalia se os parâmetros laboratoriais hematológicos somados a dosagem do D - dímero conferem valor de caráter prognóstico para determinação da gravidade da COVID-19, visto que muitos exames laboratoriais utilizados rotineiramente na triagem de pacientes podem auxiliar tanto na distinção de infecções e avaliação da gravidade, quanto no acompanhamento de pacientes.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 OBJETIVO GERAL

a) Avaliar o histórico clínico prévio e parâmetros hematológicos laboratoriais no diagnóstico da COVID-19 das pacientes correlacionando com a evolução da doença e a gravidade.

### 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Determinar valores de acurácia; sensibilidade; especificidade dos parâmetros laboratoriais hematológicos (leucócitos; hemácias, plaquetas) e da dosagem do D-dímero associados a gravidade da COVID-19, comparando a população doente de COVID-19 com uma população não doente.

b) Associar a gravidade da COVID-19 com as comorbidades das pacientes.

c) Avaliar a influência dos genótipos na gravidade da doença.

## 5 MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 CASUÍSTICA

Este é um estudo retrospectivo transversal realizado por meio da análise de dados de prontuários de pacientes do sexo feminino que foram internadas ou atendidas nas Unidades de Urgência - Emergência, Enfermarias Respiratórias e Unidade de Terapia Intensiva (UTI) no Complexo Hospital de Clínicas de Curitiba (CHC-UFPR). As pacientes selecionadas para o estudo foram atendidas nos setores de triagem, emergência e/ou internadas no período de março de 2020 a julho de 2021 no Complexo Hospital de Clínicas (CHC-UFPR) de Curitiba-PR. O referido Hospital é de caráter público prestador de atendimento exclusivamente para o Sistema Único de Saúde (SUS) e referência em atendimentos de média a alta complexidade no estado do Paraná.

#### 5.1.1 Amostra

O estudo é composto por 2 grupos: o grupo de estudo incluiu 84 pacientes do sexo feminino infectadas e sintomáticas com COVID-19 sendo que 38 pacientes apresentaram doença grave e foram internadas na UTI e 46 pacientes apresentaram doença moderada e foram monitoradas em enfermarias. O grupo controle composto por 100 pacientes do sexo feminino sem a COVID-19 com a finalidade de validação dos parâmetros laboratoriais hematológicos propostos no estudo com as curvas ROC.

Os grupos foram selecionados respeitando as seguintes características: idade entre 22-90 anos, 100 % mulheres, as pacientes infectadas com diagnóstico molecular para SARS-COV-2 confirmado e histórico de comorbidades. As pacientes não infectadas de COVID-19 são pacientes ambulatoriais de controle, apresentando comorbidades (HAS, DM e obesidade) semelhantes às infectadas, mas com resultados de hemograma e D-dímero dentro dos critérios de normalidade e referência para esses exames.

Dentre as principais comorbidades encontradas nas pacientes pode – se relatar: 22% tinham diagnóstico prévio de Diabetes Mellitus ;44% apresentavam Hipertensão Arterial Sistêmica; 9% apresentavam Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica;16% apresentavam Obesidade;8% não apresentaram nenhuma comorbidade prévia e 65% apresentaram outras comorbidades associadas dentre as principais: dislipidemia, ansiedade, hipotireoidismo, asma, câncer, depressão, tabagismo e cardiopatias incluindo insuficiência cardíaca.

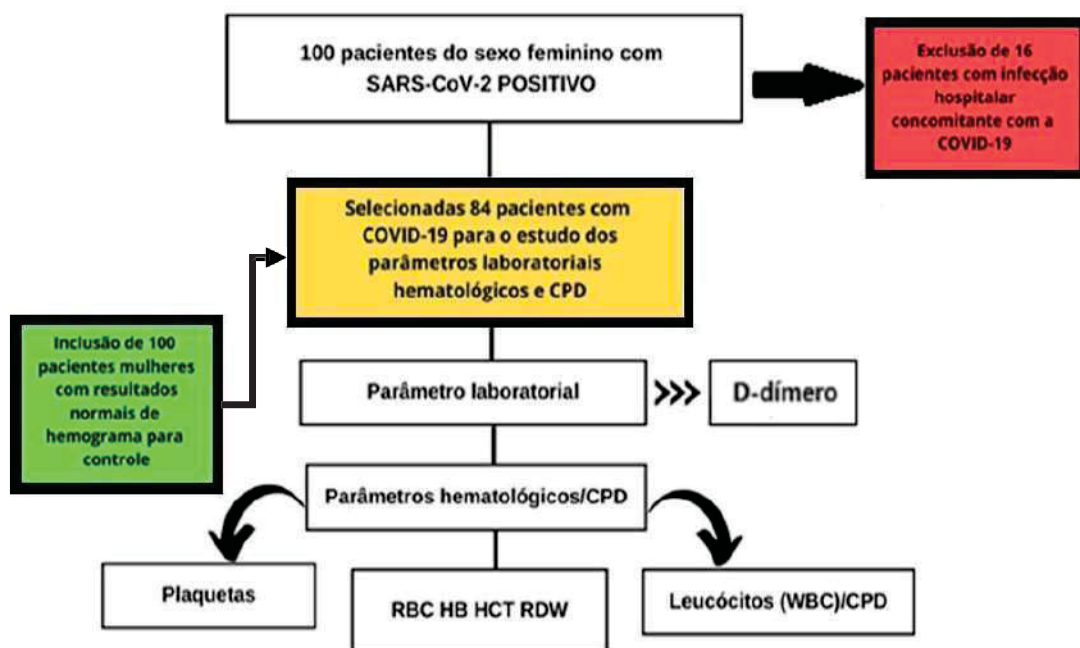
### 5.1.2 Critérios de inclusão e exclusão

A seleção das pacientes do estudo seguiu os seguintes critérios: Inclusão: pacientes do sexo feminino com idade > 18 anos; teste RT-qPCR positivo para SARS-CoV-2 atendidas e internadas no CHC-UFPR. Exclusão: pacientes do sexo feminino SARS-CoV-2 positivo que apresentaram infecção hospitalar concomitantemente com a COVID-19.

### 5.1.3 Aspectos éticos

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do CHC da UFPR, sob o número CAAE 36697020.7.0000.0096 (Anexo 1).

**FIGURA 3 – FLUXOGRAMA DAS AMOSTRAS**



FONTE: A autora (2022).

## 5.2 REVISÃO DOS PRONTUÁRIOS

A análise dos prontuários para o levantamento dos dados clínicos e epidemiológicos ocorreu mediante solicitação junto à Unidade de Apoio e Diagnóstico (UAD) de acesso, por senha ao Sistema de Informatização Hospitalar (SIH) e ao Aplicativo de Gestão para Hospitais Universitários (AGHU). Os dados dos parâmetros hematológicos e as dosagens de dímero foram coletados diretamente dos *softwares* dos equipamentos do Setor de Hematologia sob supervisão do Coorientador desse estudo. Nos prontuários médicos foram coletadas informações acerca do histórico de doenças prévias, início dos sintomas gripais, tempo de internamento e resultados da RT-qPCR para SARS-CoV-2.

Os dados de Genotipagem foram compartilhados gentilmente por pesquisadores do grupo, que utilizaram parte das amostras selecionadas neste estudo para determinação do genótipo.

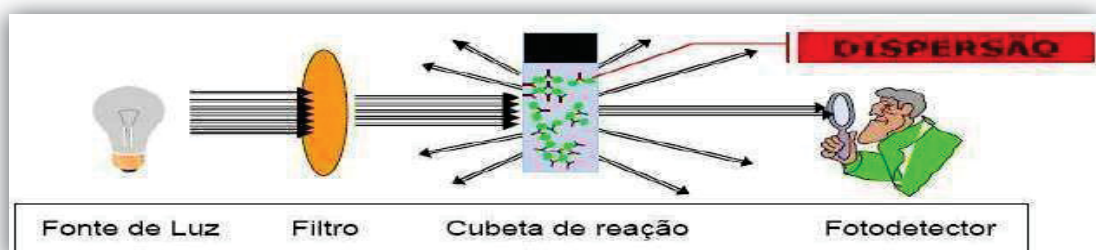
## 5.3 MÉTODOS DIAGNÓSTICOS APLICADOS

### 5.3.1 Método: Imunoturbidimetria - Dosagem do D-dímero

Ensaio analítico que utiliza a imunoprecipitação e a dispersão da luz para quantificar os analitos presentes no soro e plasma (antígeno ou anticorpo).

A quantificação de D-dímero com o reagente INNOVANCE (Dade Berhing) é feita por um ensaio imunoturbidimétrico. Partículas de poliestireno cobertas com anticorpo monoclonal 8D3 sofrem agregação quando em contato com amostras contendo D-dímero. A reação de agregação é detectada e quantificada turbidimetricamente, sendo correlacionada, então, com a concentração de D-dímero.

**FIGURA 4 - PRINCÍPIO DA IMUNOTURBIDIMETRIA**



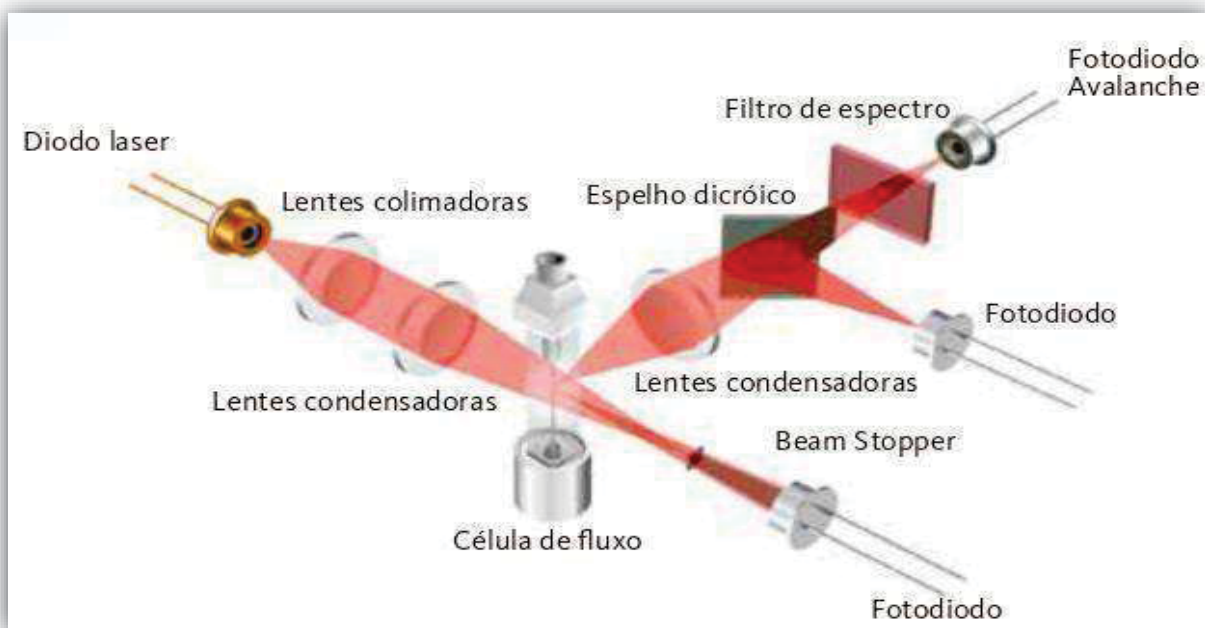
FONTE: Siemens Healthcare Diagnósticos Ltda. (2023).

### 5.3.2 Método: Citometria de fluxo/Impedância - hemograma completo e CPD (dados de população celular)

A Citometria é uma ferramenta diagnóstica usada para analisar as características fisiológicas e químicas das células e de outras partículas biológicas. A citometria de fluxo é usada para analisar as células e partículas à medida que passam por unidades de fluxo extremamente pequenas.

Uma amostra de sangue é aspirada e medida, diluída até a proporção especificada e marcada. Em seguida a amostra é dispensada nas unidades de fluxo. Este mecanismo de Focalização Hidrodinâmica melhora a exatidão e a repetibilidade da contagem de células sanguíneas. E como as partículas de células passam em linha pelo centro da unidade de fluxo, a criação de impulsos sanguíneos anormais é impedida e a contaminação das unidades de fluxo é reduzida.

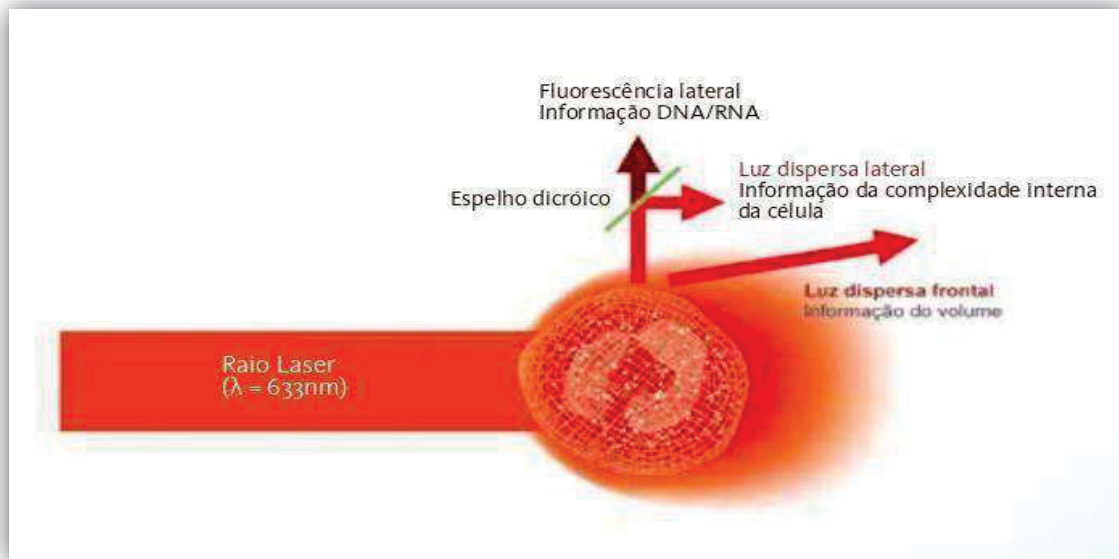
**FIGURA 5 - ESQUEMA DA UNIDADE ÓPTICA DO ANALISADOR XN - 3100**



FONTE: Sysmex (2023).

Um feixe de laser semiconductor (comprimento de onda: 633 nm) é emitido para células sanguíneas que passam pela célula de fluxo. A luz dispersada frontal e a luz dispersada para o lado são capturadas pelo fotodiodo e a luz fluorescente lateral é capturada pelo tubo fotomultiplicador. Esta luz é convertida em impulsos elétricos, tornando assim possível obter as informações da célula de sangue.

**FIGURA 6– CITOMETRIA DE FLUXO FLUORESCENTE**



FONTE: Sysmex (2023).

A citometria de fluxo tradicional é considerada o melhor método para a diferenciação de populações de células. No entanto, é um procedimento caro, complexo e muito trabalhoso. A Sysmex adaptou as técnicas básicas de citometria de fluxo tradicional utilizando o corante de polimetina, altamente específico, agilizando, assim, a rotina no setor de hematologia dos laboratórios clínicos.

Na série XN 3100-Sysmex, a amostra aspirada é separada em sete alíquotas;

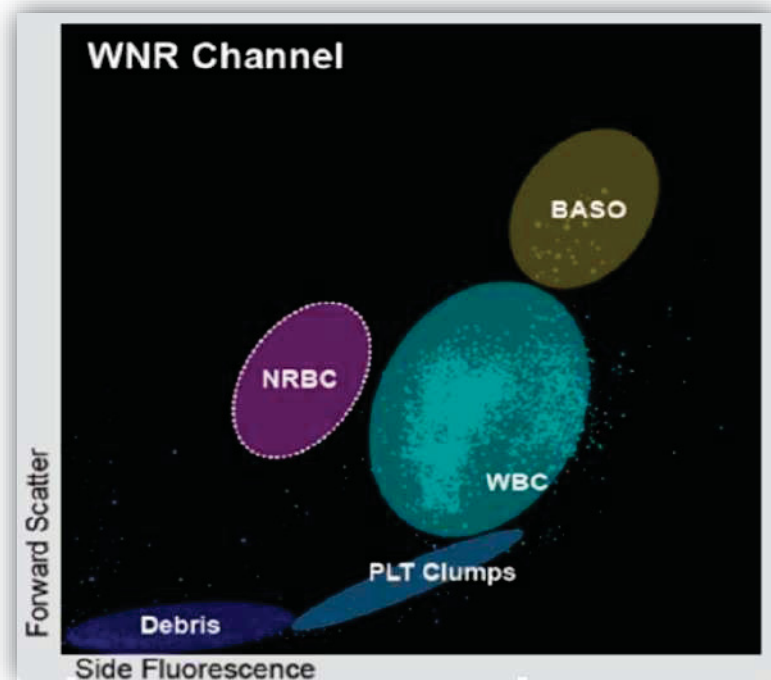
- a) uma alíquota para dosagem da hemoglobina;
- b) uma alíquota para contagem e determinação do volume dos eritrócitos e plaquetas (canal RBC/PLT);
- c) uma alíquota para contagem global de leucócitos;
- d) três alíquotas para contagem global e diferencial de leucócitos;
- e) uma alíquota para avaliação da imaturidade celular e dos alarmes (flags).

Dosagem de hemoglobina: uma parte do sangue aspirado é diluída em agente lítico surfactante, o lauril sulfato de sódio, que proporciona a transformação da hemoglobina em um complexo corado (lauril sulfato de sódio-metemoglobina), que tem seu pico de máxima absorção de luz em 555nm. A hemoglobina liberada é convertida em pigmento de cor estável, que é medido espectrofotometricamente.

Contagem de eritrócitos e plaquetas: parte do sangue aspirado é diluído em solução isotônica de NaCl. No canal RBC/PLT, utiliza-se uma abertura de impedância para baixas frequências - DC - em foco hidrodinâmico, para a contagem e detecção do volume de eritrócitos e plaquetas. No sistema Sysmex, o RDW é calculado de duas formas: com base no desvio-padrão (RDW-SD) e pelo coeficiente de variação (RDW-CV).

Determinação do hematócrito: o hematócrito é determinado e não calculado. O número de eritrócitos (RBCs) é determinado com o número de pulsos (dentro do limite de detecção para eritrócitos) conferidos em um volume da amostra e tempo definidos. O hematócrito é obtido como a soma dos pulsos de todos os eritrócitos conferidos (que corresponde ao volume total de eritrócitos contados) no volume da amostra analisada, que corresponde a 100%. Nos contadores Sysmex, o VCM é calculado com base no hematócrito, pela fórmula clássica de Wintrobe, em que  $VCM = HCT \times 10 / RBC$ .

Contagem global de leucócitos e diferencial em seis partes: em um primeiro canal de leucócitos, parte do sangue aspirado é diluído em duas fases: em reagentes que contêm formaldeído (preserva as características biofísicas dos leucócitos) e em agente lítico de eritrócitos e plaquetas, para uma diluição final de 1:250x. Nesse processo, o valor global de leucócitos é determinado pelo somatório das partes (monócitos, linfócitos, células imaturas, eosinófilos e granulócitos (neutrófilos+ basófilos) que, por sua vez, são discriminadas por meio de seus diferentes volumes e complexidades internas em um canal específico. Dois outros canais de impedância simples contam especificamente os basófilos, eritroblastos e leucócitos para complementação da contagem diferencial para seis partes.

**FIGURA 7 - REPRESENTAÇÃO DO CANAL WNR**

Legenda:

Forward Scatter (dispersão frontal de luz)

Side Fluorescence (fluorescência lateral)

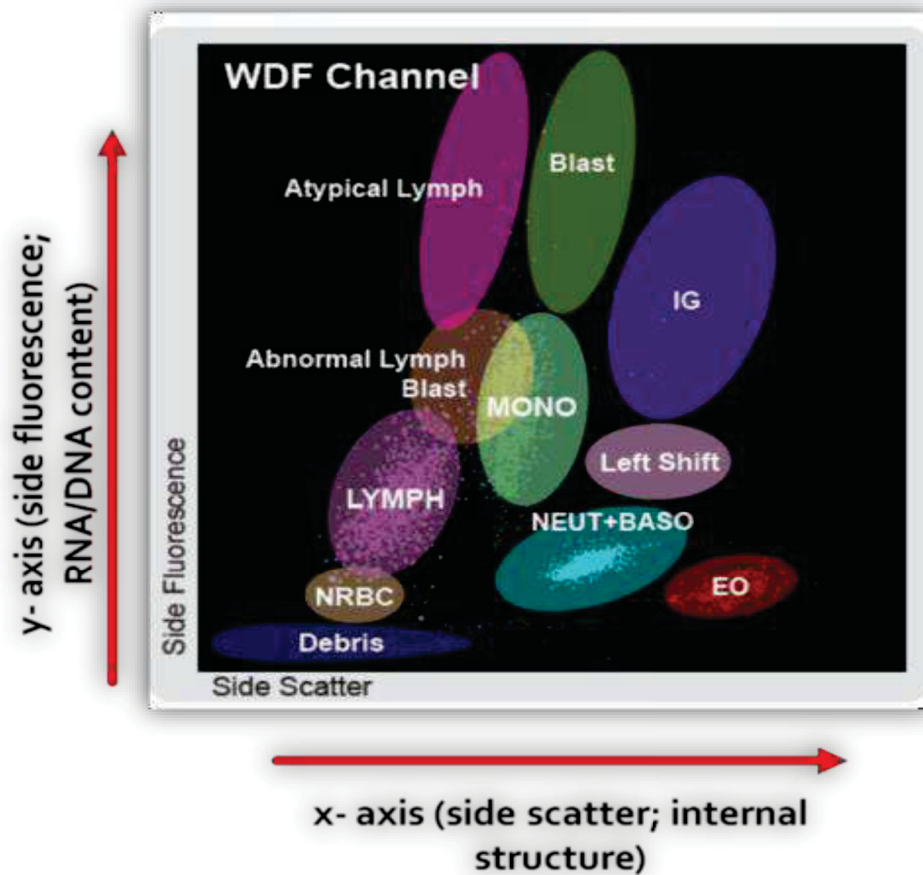
Debris (estroma); PLT Clumps (agregados plaquetários)

NRBC (eritroblastos); WBC (leucócitos); BASO(basófilos)

FONTE: Sysmex (2023).

No canal WNR, o analisador mede a fluorescência lateral e a dispersão frontal de luz, empregando o corante de polimetina específico para ácidos nucleicos e lise celular específica. A fluorescência lateral avalia o conteúdo de material nucleico para identificação e quantificação de eritroblastos, basófilos e leucócitos. A luz desviada frontalmente mede o tamanho da célula.

FIGURA 8- REPRESENTAÇÃO DO CANAL WDF



Legenda:

Side Scatter (dispersão lateral); Internal structure (estrutura interna)  
 Side Fluorescence (fluorescência lateral); RNA/DNA content (conteúdo de RNA/DNA)  
 Debris (estroma); NRBC (eritroblastos); Neut+Baso (neutrófilos + basófilos); EO (eosinófilos)  
 Lymph (linfócitos); Abnormal lymph/Blast (linfócitos anormais/linfoblastos);  
 Atypical lymph (linfócitos atípicos); Blast (blastos); Mono (monócitos)  
 Left Shift (desvio à esquerda); IG (granulócitos imaturos)

FONTE: Sysmex (2023)

No canal WDF a Sysmex melhorou a sensibilidade e especificidade da análise diferencial de seis partes empregando uma nova tecnologia de discriminação entre monócitos, linfócitos, linfócitos atípicos e blastos. O algoritmo adaptável de alarmes Sysmex baseado no reconhecimento da forma da área da população celular – SAFLAS - consegue discriminar linearmente o agrupamento celular do gráfico de WDF analisando a forma e o posicionamento de diferentes populações de células mononucleares. Com isso, há uma melhor diferenciação leucocitária reportada.

### 5.3.3 - Biologia Molecular- RT-qPCR e genotipagem

Extração do RNA: após a coleta em meio de transporte viral, as amostras clínicas eram transportadas climatizadas para os laboratórios de diagnóstico, onde em até 24 horas seria realizado o isolamento do RNA viral pelo sistema de extração automatizado Extracta 32 com o kit *EXTRACTA DNA and viral RNA* (LOCCUS, SP, Brasil).

RT-qPCR: técnica Molecular empregada para o diagnóstico do SARS-COV-2, considerada padrão ouro, que permite identificar a presença de material genético (RNA) viral em amostras de secreção respiratória (MS, 2022). Os alvos mais comumente utilizados para detecção do SARS-CoV-2 são os genes ORF1a, ORF1ab, ORF1b-nsp14, E, N, N2, S e RdRp (CASTELLANOS; SOMOZA, 2022; CHEN *et al.*, 2021; LOWE *et al.*, 2020). Dentre eles, o gene N não é capaz de confirmar sozinho a detecção por sua baixa especificidade devido ao fato de ser uma região com grau considerável de conservação entre os CoVs, principalmente com o SARS-CoV (CASTELLANOS; SOMOZA, 2022; JIANG *et al.*, 2020).

Genotipagem por RT-qPCR: foram utilizados em sequência dois protocolos de genotipagem baseados em sondas para identificação de VoC (ADAMOSKI *et al.*, 2021). O primeiro utilizava como alvo duas regiões de deleção - 69-70del na *spike* e 3675-3677del e na ORF1-a/b para identificar Alpha, Beta/Gamma, sem discriminar as duas últimas (VOGELS *et al.*, 2021). O protocolo seguinte utilizou primers 73 do painel da Thermo Fischer Scientific (Thermo Fisher Scientific, Applied Biosystems, US), que usa como alvo as mutações K417T, E484K, N501Y, P681R, para identificar as variantes Delta e Zeta, além de diferenciar Beta de Gamma.

Genotipagem por NGS: o sequenciamento completo do genoma viral foi realizado de acordo com a diretriz da OMS sobre o sequenciamento do genoma do SARS-CoV-2 (PAHO, 2022) pelo método de sequenciamento de nova geração (NGS) 74 Illumina Mi-seq, utilizando o kit Illumina COVIDSeq Test (IlluminaTM, CA, EUA).

A montagem da sequência consenso e a identificação do genótipo foram realizados pelo Viralflow - um fluxo de trabalho automatizado para montagem do genoma SARS-CoV-2, atribuição de linhagem, mutações e detecção de variantes intra-hospedeiro (DEZORDI *et al.*, 2021). Apenas as sequências com <1% de nucleotídeos não identificados e >29 kb foram depositadas no banco de dados GISAID e utilizadas na análise molecular. As sequências consenso foram alinhadas com as sequências referência da cepa selvagem (Wuhan-Hu-1 - EPI\_ISL\_402124) e das variantes B.1.1.28, B.1.1.33 Alpha, Delta, Gamma e Zeta - disponíveis no banco de dados EpiCoV do GISAID – utilizando o MAFFT v.7.

#### 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

O presente estudo avaliou 18 variáveis de respostas contínuas, descritas a seguir: D-dímero, WBC (Contagem global de leucócitos), RNL (Relação neutrófilo/linfócito); dados populacionais celulares relacionados à contagem de leucócitos e suas subpopulações: WNR-X, WNR-Y, WNR-WX; WNR-WY, NE-SSC, NE-SFL, WDF-WX, WDF-WY, LY-X, LY-Y além da série vermelha: RBC, HB, HCT, RDW e plaquetas. As covariáveis categóricas que denominamos T1 e T2 nos cálculos estatísticos, representam respectivamente os tempos de coleta de exames sendo T1 considerado exame de admissão do paciente no CHC-UFPR e T2 último exame prévio ao desfecho (alta médica ou óbito).

A avaliação das pacientes foi realizada nestes dois tempos supracitados, além das categorias de comorbidades adicionadas ao estudo (Diabetes mellitus, Hipertensão arterial sistêmica, Doença pulmonar obstrutiva crônica e Obesidade). Também foram analisadas as possíveis diferenças entre a gravidade, desfecho e genotipagem.

O *software* R Core Team versão (2021) adicionado do pacote gcmr (*Gaussian copula marginal regression*) foram as ferramentas estatísticas escolhidas para esta análise de dados. O nível de significância adotado foi de 5%. Para avaliar a normalidade dos dados utilizou-se o teste de Shapiro-Wilk, considerando-se que para  $p > 0,05$  assumiu-se distribuição normal (gaussiana) para distribuição da variável resposta. Caso contrário, isto é, quando  $p < 0,05$ , assumiu-se distribuição gamma para a distribuição da variável resposta. E na hipótese nula  $H_0$  é feita suposição de normalidade para os dados propostos.

Com o intuito de avaliar a performance de resposta dos parâmetros laboratoriais e dos dados celulares populacionais (CPD) frente a COVID-19 foram realizadas análises estatísticas com o auxílio do *software* R Core Team versão (4.2.1, 2022) e do MedCalc versão (20.218, 2023) que resultaram em curvas ROC expressando as porcentagens de sensibilidade, especificidade, acurácia dos parâmetros analisados quando comparados com o grupo controle não doente e entre os doentes com COVID-19 grave frente às pacientes com a doença moderada.

## **6 RESULTADOS**

Na análise completa dos 18 parâmetros verificados, foram selecionamos três parâmetros (D-dímero, WBC e RNL) pertinentes e com relevância em todas as categorias avaliadas. Além disso, destaca-se em cada categoria analisada outros parâmetros importantes e presentes ao conjunto de dados analisados por categoria.

A tabela 1 resume a análise dos parâmetros hematológicos e do D-dímero com relação à gravidade da COVID-19; o grupo incluiu 84 pacientes doentes sendo, 38 casos graves com destaque para os seguintes parâmetros: WBC (leucócitos); RNL (relação neutrófilo/linfócito) e LY-X, LY-Y que representam as características celulares dos linfócitos.

**TABELA 1 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS NA GRAVIDADE DA COVID-19, COMPARANDO DOENÇA MODERADA COM DOENÇA GRAVE**

ADMISSÃO HOSPITALAR	Doentes COVID-19 (n=84)				Valor p	Valores de Referência
	COVID-19 moderada (n=47)		COVID-19 grave (n=38)			
Parâmetro	Med	IIQ (P25 - P75)	Med	IIQ (P25 - P75)		
D-dímero	1,31	0,63 - 3,32	2,19	1,0 - 4,24	<b>&lt;0,001</b>	<0,55 mg/FEU
WBC	7,1	5,5 - 10,6	10,7	7,2 - 12,4	<b>&lt;0,001</b>	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
RNL	6,05	3,23 - 11,1	10,15	6,13 - 17,9	<b>&lt;0,001</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)
LY-X	78,1	76,4 - 81,1	77,3	75,3 - 78,8	<b>0,023</b>	80,1 (79,6 - 80,4)
LY-Y	71,9	70,7 - 75,3	70,2	67,7 - 72,7	<b>0,002</b>	72,8 (72,3 - 73,5)
<b>DESFECHO HOSPITALAR</b>						
Parâmetro	Med	IIQ (P25 - P75)	Med	IIQ (P25 - P75)		
D-dímero	1,44	0,62 - 5,91	1,09	0,63 - 4,62	<b>0,128</b>	<0,55 mg/FEU
WBC	7,9	5,9 - 11,2	10,9	7,7 - 15,6	<b>&lt;0,001</b>	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
RNL	3,95	2,3 - 7,4	4,70	2,4 - 14,5	<b>&lt;0,001</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)
LY-X	79,6	77,5 - 81,2	78,0	76,5 - 80,4	<b>0,026</b>	80,1 (79,6 - 80,4)
LY-Y	74,9	72,1 - 77,0	72,9	67,5 - 75,7	<b>0,024</b>	72,8 (72,3 - 73,5)

Legenda:

Med. - Mediana; (IIQ) - Intervalo Interquartil

D-dímero: mg/FEU = miligramas/Unidades equivalentes de fibrinogênio

WBC = Contagem total de leucócitos expressa valor X 1000/mm<sup>3</sup>

RNL = Relação neutrófilo/linfócito

LY-X = Complexidade de linfócitos

LY-Y = Intensidade de fluorescência de linfócitos

WDF-WX = Largura de dispersão da complexidade dos leucócitos

WNR-X = Complexidade dos leucócitos

FONTE: a autora (2023).

A tabela 2 apresenta a análise dos parâmetros hematológicos quanto ao desfecho no grupo de 84 pacientes doentes com 20% de óbitos e 80% de pacientes recuperadas. Os parâmetros de relevância foram: WBC (contagem de leucócitos); D-dímero e RNL, destaque para WBC e RNL nos casos que evoluíram para óbito apresentando medianas superiores tanto na admissão quanto no desfecho hospitalar.

**TABELA 2 - ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS NO DESFECHO CLÍNICO DA COVID-19 NA ALTA OU ÓBITO HOSPITALAR**

ADMISSÃO HOSPITALAR	Doentes COVID-19 (n=84)				Valor	Valores de
	Desfecho Alta (n=67)		Desfecho Óbito (n=17)		<i>p</i>	Referência
Parâmetro	Med.	IIQ (P25 - P75)	Med	IIQ (P25 - P75)		
D-dímero	1,20	0,74 - 3,24	3,70	2,31 - 11,0	<b>&lt;0,01</b>	<0,55 mg/FEU
WBC	8,6	6,0 - 10,9	11,5	7,8 - 13,0	<b>&lt;0,001</b>	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
RNL	7,0	4,0 - 12,6	15,2	4,5 - 22,0	<b>0,022</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)
<b>DESFECHO HOSPITALAR</b>						
Parâmetro	Med.	IIQ (P25 - P75)	Med	IIQ (P25 - P75)		
D-dímero	1,09	0,58 - 3,34	2,33	1,01 - 5,9	<b>&lt;0,001</b>	<0,55 mg/FEU
WBC	7,9	6,3 - 10,9	16,1	12,5 - 20,8	<b>&lt;0,001</b>	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
RNL	3,3	2,3 - 5,5	16,6	6,8 - 42,5	<b>0,002</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)

Legenda:

Med. - Mediana; (IIQ) - Intervalo Interquartil

D-dímero: mg/FEU = miligramas/Unidades equivalentes de fibrinogênio

WBC = Contagem total de leucócitos expressa valor X 1000/mm<sup>3</sup>

RNL = Relação neutrófilo/linfócito

LY-X = Complexidade de linfócitos

LY-Y = Intensidade de fluorescência de linfócitos

WDF-WX = Largura de dispersão da complexidade dos leucócitos

WNR-X = Complexidade dos leucócitos

FONTE: a autora (2023).

A tabela 3 apresenta as medianas para os valores de dosagem do D-dímero na admissão e desfecho hospitalar das pacientes com histórico prévio de Hipertensão arterial sistêmica; Diabetes mellitus e Obesidade demonstrando que o D-dímero se eleva em pelo menos 2,4 vezes o valor de referência para o teste na triagem da COVID-19.

**TABELA 3 - ANÁLISE DO D-DÍMERO COM RELAÇÃO À PRESENÇA DE COMORBIDADES**

PACIENTES COM COVID-19 (n=84)				
PARÂMETRO D- DÍMERO				
Presença de	ADMISSÃO HOSPITALAR			Valor de
Comorbidades	Mediana	IIQ (P25 - P75)	Valor de <i>p</i>	Referência
HAS	1,50	0,8 - 4,38	<b>&lt;0,001</b>	<b>&lt; 0,55</b>
DM	1,35	0,9 - 3,16	<b>&lt;0,001</b>	
Obesidade	3,31	0,83 - 9,01	<b>&lt;0,01</b>	
<b>DESFECHO HOSPITALAR</b>				
HAS	2,12	0,62 - 6,69	0,127	<b>&lt; 0,55</b>
DM	1,88	1,17 - 4,62	0,335	
Obesidade	1,56	0,52 - 4,19	<b>0,001</b>	

Legenda:

HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica

DM = Diabetes Mellitus

IIQ = Intervalo interquartil

FONTE: a autora (2023)

A tabela 4 apresenta as medianas para os valores de contagem de leucócitos (WBC) na admissão e desfecho hospitalar das pacientes com histórico prévio de Hipertensão arterial sistêmica; Diabetes mellitus e Obesidade demonstrando que o WBC aumentou mais acentuadamente na presença de Hipertensão arterial sistêmica e na Obesidade. Na presença de Diabetes mellitus não houve muita diferença entre a variação das contagens de leucócitos na admissão e no desfecho hospitalar, porém mesmo assim o WBC manteve-se com um valor de  $p < 0,001$  significativo.

**TABELA 4 - ANÁLISE DO WBC COM RELAÇÃO À PRESENÇA DE COMORBIDADES**

PACIENTES COM COVID-19 (n=84)				
PARÂMETRO				
WBC				
Presença de Comorbidades	ADMISSÃO HOSPITALAR			Valor de Referência
	Mediana	IIQ (P25 - P75)	Valor de $p$	
HAS	10,4	6,8 - 13,2	<0,001	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
DM	7,7	5,7 - 11,4	<0,001	
Obesidade	11,3	6,7 - 20,4	<0,001	
DESFECHO HOSPITALAR				
HAS	9,3	6,6 - 15,2	<0,001	3,8 - 11,0 x 10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup>
DM	7,8	6,3 - 11,6	<0,001	
Obesidade	10,2	7,5 - 12,4	<0,001	

Legenda:

WBC = Contagem de leucócitos

HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica

DM = Diabetes Mellitus

IIQ = Intervalo interquartil

FONTE: a autora (2023).

A tabela 5 apresenta as medianas para os valores da relação neutrófilo/linfócito (RNL) na admissão e desfecho hospitalar das pacientes com histórico prévio das comorbidades listadas abaixo demonstrando que a RNL na presença de obesidade elevou-se em média 7 vezes o valor de referência na admissão das pacientes.

**TABELA 5 - ANÁLISE DO RNL COM RELAÇÃO À PRESENÇA DE COMORBIDADES**

PACIENTES COM COVID-19 (n=84)				
PARÂMETRO RNL				
Presença de	ADMISSÃO HOSPITALAR			Valor de
Comorbidades	Mediana	IIQ (P25 - P75)	Valor de <i>p</i>	Referência
HAS	8,10	4,7 - 16,3	<b>&lt;0,01</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)
DM	11,05	6,7 - 14,3	<b>&lt;0,001</b>	
Obesidade	14,1	6,63 - 47,7	<b>&lt;0,001</b>	
<b>DESFECHO HOSPITALAR</b>				
HAS	3,55	2,3 - 11,6	<b>&lt;0,001</b>	< 2,1 (1,5 - 2,0)
DM	4,9	2,5 - 10,0	<b>0,580</b>	
Obesidade	5,5	2,35 - 8,93	0,245	

Legenda:

RNL = Relação neutrófilo/linfócito

HAS = Hipertensão Arterial Sistêmica

DM = Diabetes Mellitus

IIQ = Intervalo interquartil

FONTE: a autora (2023).

**QUADRO C – ANÁLISES GRAVIDADE/DESFECHO X PRESENÇA DE COMORBIDADES**

<b>GRAVIDADE X PRESENÇA DE COMORBIDADE</b>			
COVID-19 (n=84)	HAS (n=44) n	DM (n=22) n	Obesidade (n=16) n
Moderada	21	10	5
Grave	23	12	11
<b>Valor de p</b>	0,2570*	0,4403*	0,0686*
<b>DESFECHO X PRESENÇA DE COMORBIDADE</b>			
Alta	32	17	11
Óbito	12	5	5
<b>Valor de p</b>	0,1096**	0,7621**	0,2980**

\* (Teste Qui-quadrado) \*\* (Teste Exato de Fisher)

FONTE: a autora (2023).

**QUADRO D – ANÁLISE GRAVIDADE X DESFECHO**

<b>GRAVIDADE X DEFECHO</b>		
COVID-19 (n = 84)	Alta (n = 67) n	Óbito (n = 17) n
Moderada (n = 46)	44	02
Grave (n = 38)	23	15
<b>Valor de p</b>	<b>&lt; 0,001 *</b>	

\* (Teste Exato de Fisher)

FONTE: autora (2023).

Quanto à genotipagem não foram observados resultados significativos comparando a gravidade dos casos estudados com os respectivos genótipos testados resultando num  $p = 0,9602$  quando aplicado o teste de Fisher. Os genótipos detectados nessas amostras foram o *wild* (13%); *alpha* (1%); *gamma* (34%) e (1%) *zeta* totalizando em torno de 50% dos 84 pacientes. Foram testadas no total 60 das 84 amostras e obteve-se 11% de amostras inconclusivas, onde não foi possível identificar o genótipo.

Com relação à DPOC não foram encontrados resultados relevantes devido ao reduzido número de pacientes ( $n=9$ ) com essa comorbidade, presentes no grupo de estudo de pacientes doentes. A presença de DPOC não influenciou a gravidade da COVID-19, apresentando um  $p = 0,7252$  na comparação entre doença grave e moderada. Quanto ao desfecho clínico também não houve significância, sendo  $p = 0,3775$  na avaliação entre os casos de alta ou óbito hospitalar.

## 6.1 CURVAS ROC

As curvas ROC definem a capacidade discriminativa de um teste diagnóstico para um determinado número de valores de ponto de corte. Isso permite colocar em evidência os valores para os quais existe maior otimização da sensibilidade em função da especificidade. O ponto numa curva ROC em que isso acontece é aquele que se encontra mais próximo do canto superior esquerdo do diagrama e pode ser definido pelo índice de Youden (SILVA, 2004). O índice de Youden maximiza as taxas de verdadeiro positivo e verdadeiro negativo. Pode ser aplicado em diversos pontos da curva sendo que o valor máximo encontrado representa o melhor ponto de corte da curva numa série de dados contínuos (YOU DEN, 1950).

No presente estudo foram avaliados todos os 18 parâmetros hematológicos produzindo suas respectivas curvas ROC comparando uma população sem COVID-19 (grupo controle) com características de faixa etária e presença de comorbidades semelhantes às pacientes doentes com COVID-19 e entre as doentes classificadas com doença moderada e grave para avaliar quais parâmetros demonstrariam melhor acurácia na presença da doença e na discriminação da gravidade.

Os resultados das curvas ROC são apresentados na tabela 6 e reafirmam alguns achados na estatística de regressão acima descrita, demonstrando que os parâmetros hematológicos e a dosagem do D-dímero sugerem uma diferenciação entre a doença moderada e grave, principalmente na avaliação admissional hospitalar das pacientes, sinalizando as alterações na resposta celular inata do organismo frente ao SARS-CoV-2 e à evolução da doença nos casos de maior gravidade.

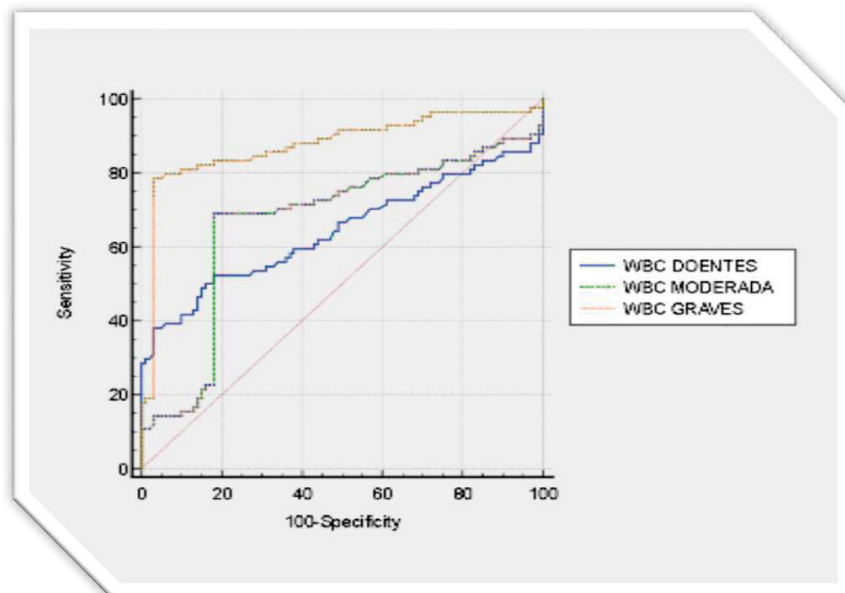
As tabelas 6, 7 e 8 a seguir apresentam a análise das curvas ROC para os parâmetros WBC, RNL e D-dímero com resultados coletados na admissão das pacientes, comparando o grupo de pacientes doentes COVID-19 (n=84) com os grupos de doença moderada (n=46) e doença grave (n=38).

Na tabela 6 é apresentada a análise das curvas ROC com relação ao parâmetro WBC e pode-se observar uma boa acurácia de 0,879 na diferenciação entre COVID-19 moderada e grave, sendo encontrado um valor preditivo positivo de 79,0% e um valor preditivo negativo de 90,9% com uma eficiência de 84,5% nas pacientes com doença grave. Já na análise da curva das pacientes doentes que representam doença moderada e grave em conjunto observa-se uma acurácia de 0,643 e em relação à curva da doença moderada obteve-se uma acurácia de 0,669 com valor preditivo positivo de 54,8% e valor preditivo negativo de 74,6%, representando uma eficiência de 65% nas pacientes com doença moderada.

**TABELA 6- ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA DAS CURVAS ROC COM RELAÇÃO À CONTAGEM DE TOTAL DE LEUCÓCITOS (WBC)**

Parâmetro	COVID-19	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade	Índice de Youden	Cut off
WBC	Doentes (84)	0,643	38,1%	97%	0,35	>10420
	Moderada (46)	0,669	57,5%	72%	0,29	>8480
	Grave (38)	<b>0,876</b>	<b>77,3%</b>	<b>91,7%</b>	<b>0,69</b>	<b>&gt;10420</b>

**FIGURA 9 - CURVAS ROC WBC (Leucócitos)**



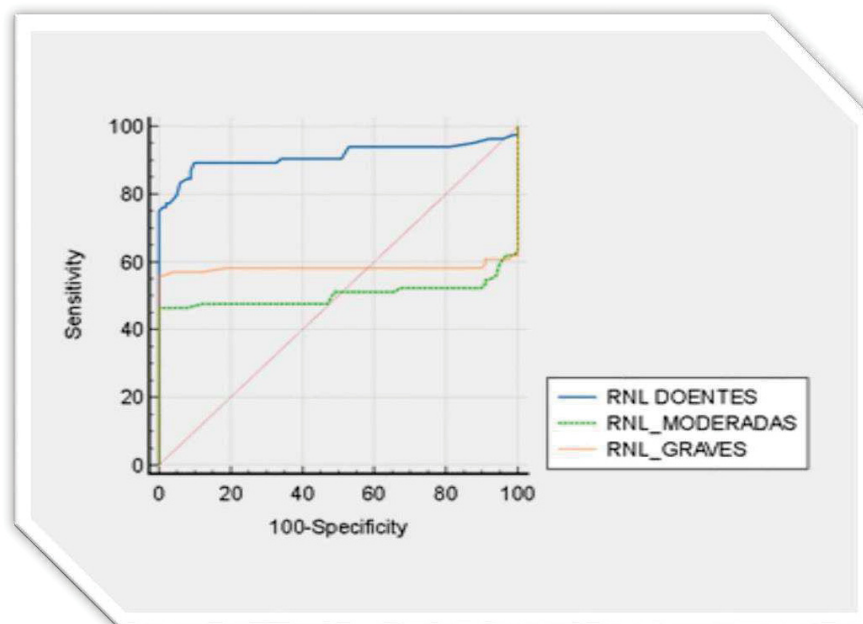
FONTE: a autora (2023).

Na tabela 7 é apresentada a análise compilada das curvas ROC com relação ao parâmetro RNL e pode-se observar uma boa acurácia de 0,913 na triagem de pacientes doentes com COVID-19, porém, sem diferenciação significativa entre doença moderada e grave, sendo encontrado um valor preditivo positivo de 41% e 55,9%; um valor preditivo negativo de 54,3% e 59,5%; e, uma taxa de eficiência de 48% e 56,4% respectivamente, nas pacientes com doença moderada e doença grave. Apesar da AUC não apresentar boa correlação é possível perceber através do gráfico a diferença entre doença grave e moderada.

**TABELA 7 - ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA CURVAS ROC COM RELAÇÃO NEUTRÓFILO/LINFÓCITO (RNL)**

Parâmetro	COVID-19	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade	Índice de Youden	Cut Off
RNL	Doentes (84)	0,913	89,29%	90%	0,79	>2,7
	Moderada (46)	0,504	27,6%	68,5%	0,04	>2,7
	Grave (38)	<b>0,584</b>	<b>35,8%</b>	<b>77%</b>	<b>0,13</b>	<b>&gt;3,5</b>

**FIGURA 10- CURVAS ROC RNL (relação neutrófilo/linfócito)**



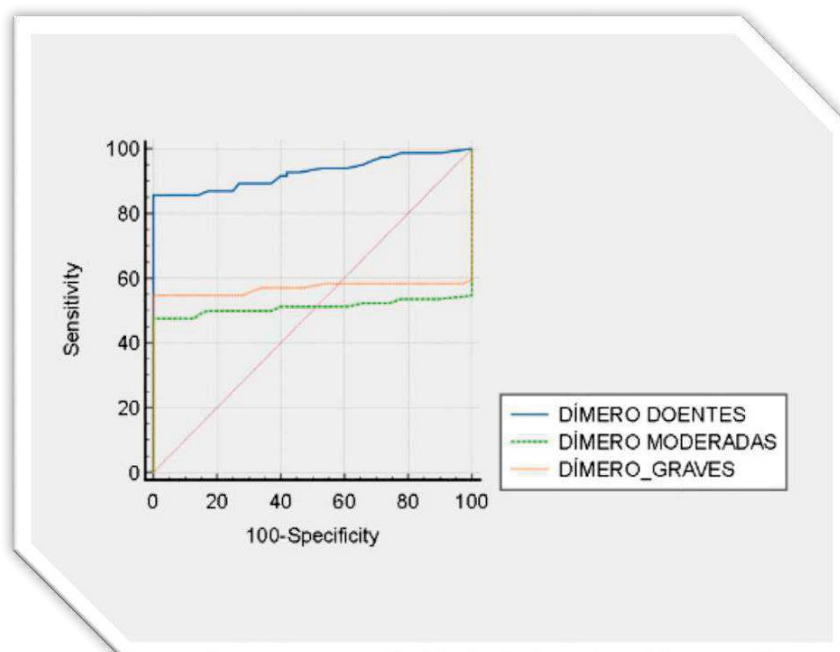
FONTE: a autora (2023)

Na tabela 8 é apresentada a análise compilada das curvas ROC com relação ao parâmetro D-dímero e pode-se observar uma boa acurácia de 0,928 na triagem de pacientes doentes com COVID-19, porém, sem diferenciação significativa entre doença moderada e grave, sendo encontrado um valor preditivo positivo de 45,5% e 37,2%; um valor preditivo negativo de 54,3% e 68,5%; e, uma taxa de eficiência de 49,9% e 53%, respectivamente, nas pacientes com doença moderada e doença grave. Com AUC inferior 0,600 não é possível distinguir doença grave de doença moderada.

**TABELA 8 - ANÁLISE ESTATÍSTICA COMPARATIVA CURVAS ROC COM RELAÇÃO AO D-DÍMERO**

Parâmetro	COVID-19	Acurácia	Sensibilidade	Especificidade	Índice de Youden	Cut off
D-dímero	Doentes (84)	0,928	92%	93,5%	0,85	>0,55
	Moderada (46)	0,512	34,9%	64,9%	0	> 0,6
	Grave (38)	<b>0,570</b>	<b>41,5%</b>	<b>63,3%</b>	<b>0,04</b>	<b>&gt;1,0</b>

**FIGURA 11- CURVAS ROC D – DÍMERO**



FONTE: a autora (2023).

No quadro E observam-se os parâmetros hematológicos em comparações múltiplas e verificou-se que a doença grave apresenta resultados com maior relevância significativa e na discriminação entre doença moderada e grave a linfopenia (LY-X e LY-Y), sendo que a contagem e caracterização dos leucócitos (WBC e WNR- X) apresentaram valores de  $p$  mais significativos.

#### QUADRO – E ANÁLISE CURVAS ROC: COMPARAÇÕES PAREADAS COVID-19

Parâmetro	Doentes (n=84) X Moderada (n=46)	Doentes (n=84) X Grave (n=38)	Moderada (n=46) X Grave (n=38)
	Valor de $p$		
WNR – WY	< 0,0001	<b>&lt;0,0001</b>	0,0388
NE – SSC	<0,0001	<b>&lt;0,0001</b>	0,0491
LY – X	0,0243	<b>&lt;0,0001</b>	0,0074
LY – Y	0,9223	<b>0,0176</b>	0,0006
NE – SFL	<0,0001	<b>0,0021</b>	0,0277
RNL	<0,0001	<b>&lt;0,0001</b>	0,0284
WNR – X	<0,0001	<b>0,0002</b>	0,0070
WBC	0,6415	<b>&lt;0,0001</b>	<0,0001

Legenda:

WNR-WY = Intensidade de fluorescência dos leucócitos e largura de dispersão.

NE-SSC = Complexidade celular de neutrófilos.

LY- X = Complexidade celular dos linfócitos.

LY - Y = Intensidade de fluorescência dos linfócitos.

NE - SFL = Intensidade de fluorescência de neutrófilos.

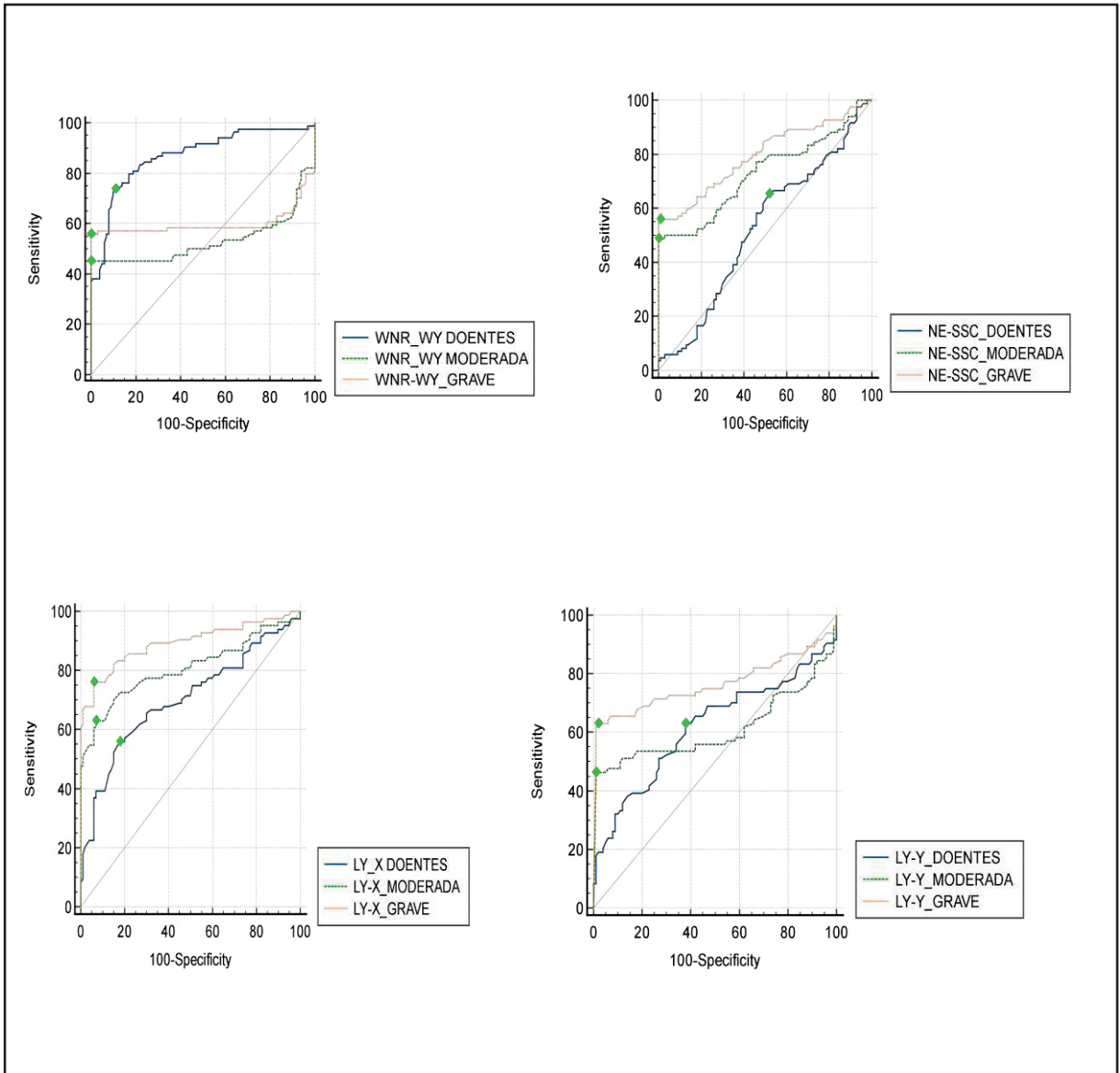
RNL = Relação neutrófilo/linfócito

WNR - X = Canal de contagem de leucócitos e complexidade

WBC = Contagem de leucócitos

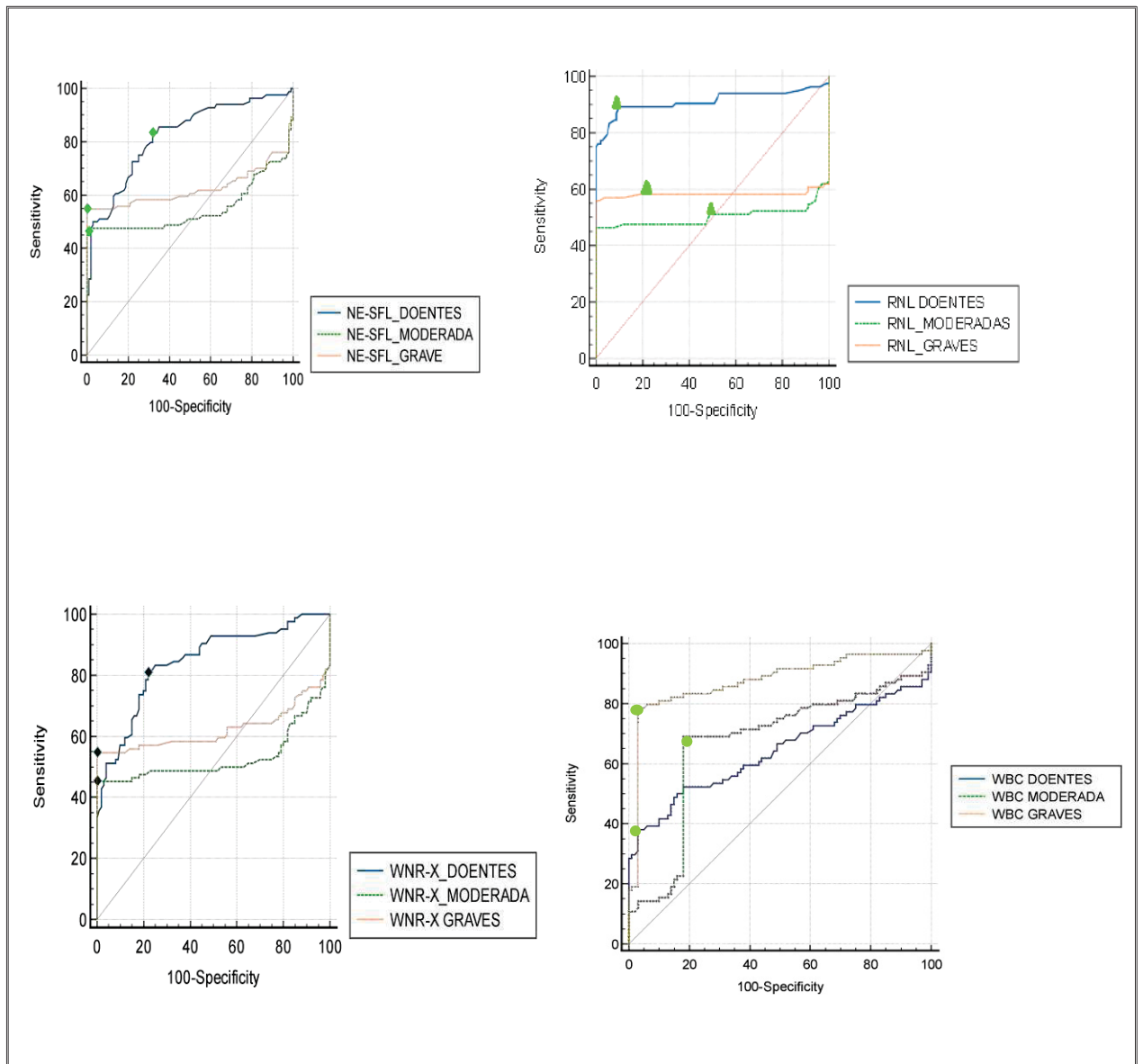
FONTE: a autora (2023).

FIGURA 12- CURVAS ROC WNR-WY, NE-SSC, LY-X, LY-Y



FONTE: a autora (2023).

**FIGURA 13 - CURVAS ROC NE-SFL, RNL, WNR-X, WBC**



FONTE: a autora (2023).

## 7 DISCUSSÃO

A COVID-19 apresenta características clínicas e laboratoriais que são resultado de processos inflamatórios locais e sistêmicos, potencializados por algumas comorbidades preexistentes, como diabetes, obesidade, hipertensão arterial sistêmica, doenças cardiovasculares e pulmonares, além de fatores biológicos como sexo e idade. Entretanto, as discrepâncias nos sinais clínicos da COVID-19 observadas entre esses pacientes levam a investigações sobre os fatores críticos que influenciam profundamente a gravidade da doença e a morte (CASAGRANDE *et al.*, 2021).

Com base nos resultados estatísticos serão discutidos os achados mais relevantes com relação aos parâmetros hematológicos do estudo proposto correlacionando outros estudos semelhantes.

### 7.1 GRAVIDADE

Em um estudo realizado na China foi relatado que alterações nas células inflamatórias do sangue periférico podem sinalizar a gravidade e a disseminação da COVID-19 (SUN *et al.*, 2020). Neste estudo, os pacientes com infecção grave apresentaram diminuição do número de linfócitos, eosinófilos, basófilos e aumento de neutrófilos. Outros autores também reportam resultados semelhantes (QIN *et al.*, 2020), relatando que a maioria dos pacientes com sintomas graves de COVID-19 apresentou aumento nos níveis séricos de citocinas e quimiocinas, além de alta produção de neutrófilos e baixa produção de linfócitos, indicando que a resposta hiperinflamatória foi a responsável pela gravidade da doença.

Com relação a linfopenia, a presente pesquisa corrobora resultados reportados em outros estudos anteriormente publicados por pesquisadores chineses. Em uma metanálise, foi observado que 35% a 75% dos pacientes desenvolveram linfopenia (LIPPI *et al.*, 2020). O presente estudo apresentou 45% de casos graves com linfopenia acentuada já no início da infecção por SARS-COV-2.

A linfopenia nesse estudo representada pelos parâmetros LY-X e LY-Y demonstrou caráter discriminatório entre COVID-19 grave e moderada não só pela análise estatística logística, mas também pelas curvas ROC comparativas onde obteve-se um  $p < 0,05$ . Outros estudos comentados mostraram que a linfopenia foi mais intensa nos pacientes que necessitaram de tratamento intensivo do que no grupo em que o cursada doença foi branda (FLEURY *et al.*, 2020).

Leucocitose e relação neutrófilo/linfócito (RNL): a RNL é considerada um marcador muito utilizado em casos de inflamação e infecção sistêmica, além de ser muito estudada como parâmetro preditor de infecção bacteriana, incluindo as síndromes respiratórias e pneumonias. O aumento dos leucócitos e da razão neutrófilo/linfócito (RNL) foi observado no grupo de pacientes com evolução mais grave em comparação ao grupo moderado-leve (FLEURY *et al.*, 2020). Os resultados extraídos do nosso estudo apresentam uma elevação mediana de cerca de até 5 vezes o valor de referência para a RNL na admissão, sendo que pacientes graves apresentaram uma RNL mediana de 10,15 em relação às pacientes com COVID-19 moderada com uma RNL mediana de 6,05.

Vários pacientes com COVID-19 apresentaram aumento na contagem de neutrófilos e queda na contagem de linfócitos durante a fase grave, indicando distúrbios importantes de desregulação do sistema imune e condição crítica nos casos mais graves da infecção (WANG *et al.*, 2020). A RNL do presente estudo comprovou esse aumento tanto em relação a gravidade como em relação às principais comorbidades das pacientes. Além disso, obteve-se uma acurácia de 91,3% na análise do RNL na curva ROC no o grupo doente, porém não houve boa acurácia para diferenciação entre doença moderada e grave.

D-dímero: em um estudo retrospectivo multicêntrico conduzido na China e realizado nos dois primeiros meses da pandemia, foi verificado que 46,4% dos pacientes com infecção por SARS-COV-2 confirmada apresentaram elevação dos valores de D-dímero ( $>0,5$  mg/L) sendo os resultados mais altos observados nos casos mais graves (GUAN *et al.*, 2020). Os resultados do presente estudo demonstram um aumento 2,4 vezes em média nos valores de dímero das pacientes com COVID-19 grave quando comparadas às pacientes com doença moderada.

O D-dímero na análise multivariada apresentou-se como um parâmetro com boa eficiência na triagem da gravidade da doença. Porém, no monitoramento do tratamento das pacientes não demonstrou ser uma boa ferramenta para decisão clínica.

## 7.2 DESFECHO

Há evidências relevantes reportadas no sentido de que a elevação da PCR (proteína C reativa), RNL e valores aumentados de D-dímero são marcadores prognósticos de infecção por SARS-CoV-2 (ZENG *et al.*; KWOK *et al.*, 2020). Os dados aqui apresentados concordam com esses autores supracitados com relação aos valores elevados para os marcadores prognósticos RNL e D-dímero na admissão das pacientes no CHC-UFPR, relatadas no presente estudo. Também já foi identificado que os pacientes com maior probabilidade de progredir para doença crítica têm níveis iniciais mais elevados de marcadores inflamatório como: ferritina, PCR, procalcitonina e D-dímero (HUANG *et al.*, 2020; PFISER *et al.*, 2021). A associação de um curso clínico e desfecho ruim foi avaliada em pacientes hospitalizados com COVID-19 sugerindo que alterações nos níveis séricos de ferritina indicam mau prognóstico. Essas alterações são resultado do aumento da produção de hepcidina e dishomeostase de ferro, levando conseqüentemente à um quadro de anemia (BELLMANN *et al.*; SHAN *et al.*, 2020).

Em um estudo transversal realizado no Espírito Santo foi identificado maior risco de óbito em pacientes com idade superior a 60 anos, com multicomorbidades, doença renal e neoplasias (MASCARELLO *et al.*, 2021). Outro estudo transversal realizado no Brasil, identificou maior risco de óbito em pacientes com duas ou mais comorbidades e idade > 50 anos (MACIEL *et al.*, 2021). O presente estudo corrobora com os autores supracitados visto que 99% dos casos das pacientes que evoluíram para o óbito possuíam pelo menos duas comorbidades além da idade superior há 50 anos.

Em 2021, concluiu-se que a avaliação da maneira como as comorbidades e fatores de gravidade se relacionam com o desfecho demonstra relevância para o gerenciamento da doença, favorecendo a identificação precoce das condições associadas à infecção por COVID-19 e proporcionando o estabelecimento de manejo terapêutico mais eficaz (DESIDERIO *et al.*, 2021).

No presente estudo pode-se comprovar essa relação entre comorbidades, gravidade e desfecho identificando parâmetros laboratoriais hematológicos associados ao prognóstico da doença. Quanto ao desfecho as pacientes com COVID-19 grave apresentaram um  $p < 0,001$  no teste exato de Fisher.

### 7.3 DIABETES MELLITUS

Estudos observacionais realizados em 2020, em diferentes países, demonstram a associação entre a gravidade da infecção pelo SARS-CoV-2 e o óbito com um quadro de diabetes subjacente (GUAN *et al.*; CHOW *et al.*; WU *et al.*, 2020). Essa associação foi observada em 24% dos pacientes hospitalizados e em 32-36% dos admitidos na UTI (CHOW *et al.*; CUMMINGS *et al.*, 2020). Além disso, outras anormalidades do metabolismo da glicose são descritas nas pessoas internadas por COVID-19, incluindo hiperglicemia, cetose euglicêmica e cetoacidose diabética clássica. Há vários fatores possíveis para o curso mais grave da referida infecção viral em diabéticos. Pode-se afirmar que os fatores relacionados ao SARS-CoV-2 incluem níveis substancialmente elevados de citocinas, o que pode induzir as células  $\beta$ - pancreáticas à apoptose e consequentemente haverá desequilíbrio na produção de insulina (EIZIRIK *et al.*, 2001).

Ademais, compreende-se que a expressão de ECA2 no pâncreas endócrino sugere a possibilidade de ligação direta do SARS-CoV-2 às células  $\beta$ , contribuindo para a deficiência de insulina e hiperglicemia (YANG *et al.*, 2010; BARON *et al.*, 2016). Por outro lado, diversos estudos reportaram que em pacientes com diabetes e infecções com uma resposta imune alterada e um aumento nos hormônios contrarreguladores podem promover: produção hepática de glicose, diminuição da secreção de insulina, cetogênese e resistência à insulina, que são fatores não específicos para COVID-19 (LAFFEL; JOSHI *et al.*, 1999; MCCOWEN *et al.*, 2001; ABU *et al.*; CAREY *et al.*, 2018). Vale ressaltar que as principais complicações extrapulmonares da infecção pelo novo Coronavírus afirmam que também fazem parte do contexto das complicações diabéticas, tais como a redução da função renal, os estados pró-trombóticos, a disfunção cardíaca e a lesão de hepatócitos (FANG *et al.*, 2020).

Esse estudo comprova que pacientes diabéticas tendem a evoluir para o estágio mais grave da COVID-19, através das alterações significativas verificadas

principalmente nas análises admissionais hospitalares de parâmetros como RNL e D-dímero considerados por diversos autores como bons indicadores de prognóstico da doença do coronavírus na admissão hospitalar. Além disso, já se sabe que pacientes com Diabetes Mellitus associada e não devidamente controlada podem evoluir rapidamente para condições de doença crítica, uma vez que essa comorbidade promove alterações sistêmicas metabólicas importantes: disfunção renal, déficit cardíaco e maior susceptibilidade a infecções, além de reação inflamatória sistêmica estimulada pela hiperglicemia.

#### 7.4 HIPERTENSÃO ARTERIAL SISTÊMICA

A OMS e a OPAS publicaram respectivamente em 2020 e 2021 que a hipertensão arterial sistêmica (HAS) afeta mais de 30% da população adulta, ou seja, mais de um bilhão de pessoas e se apresenta como a principal causa de morte prematura em todo o mundo.

Dentre os fatores de riscos para o desenvolvimento da HAS, de acordo com as Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial - 2020, destacam-se a genética, idade avançada, sexo, etnia, sobrepeso e/ou obesidade, ingestão elevada de sódio, sedentarismo, ingestão de álcool, além de fatores socioeconômicos, incluindo menor escolaridade, condições de habitação inadequadas e baixa renda familiar (BARROSO *et al.*, 2020).

Estudos apontaram que a existência de comorbidades, como a hipertensão arterial sistêmica, em pacientes com COVID-19 poderiam apresentar desfechos desfavoráveis, incluindo um risco aumentado de morte (HUANG *et al.*, 2020). Nesse cenário, foi identificado que a hipertensão é a doença crônica mais comum em pacientes contaminados pelo novo coronavírus, podendo ser justificado pela elevada prevalência global dessa comorbidade (TADIC *et al.*, 2021).

Os pacientes com hipertensão arterial sistêmica apresentam: disfunção endotelial, que se apresenta como um desequilíbrio entre substâncias vasodilatadoras e vasoconstrictoras que afeta diretamente a função vascular (YUGAR *et al.*, 2015). Associada ao processo de envelhecimento, a hipertensão resulta no enrijecimento progressivo e na perda de complacência das grandes artérias, sendo crucial na patogênese das complicações cardiovasculares na COVID-19 (NÄGELE *et al.*, 2020).

Ressalta-se que devido ao fato da HAS se apresentar, frequentemente, assintomática, o paciente pode evoluir para alterações estruturais e/ou funcionais em órgãos-alvo, como coração, cérebro, rins e vasos, o que aumentaria a suscetibilidade para o SARS-CoV-2, elevando o risco de desfechos desfavoráveis em pessoas com COVID-19 (BARROSO *et al.*; Du *et al.*, 2021). No entanto, estudos demonstraram que o controle insuficiente da pressão arterial (PA) foi independentemente associado a resultados adversos em pacientes com COVID-19 e hipertensos (RAN *et al.*, 2020).

Nessa mesma linha, outro estudo chinês relata que a hipertensão arterial sistêmica em estágio I estava presente em 37% dos pacientes hospitalizados por COVID-19, enquanto a prevalência de HAS em estágios II e III era significativamente maior (61% e 70%, respectivamente) (CHEN *et al.*, 2020). Além disso, desfechos desfavoráveis (mortalidade, choque séptico, insuficiência respiratória, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e admissão na unidade de terapia intensiva) aumentaram gradualmente com a elevação da pressão arterial.

Quanto à relação entre hipertensão arterial sistêmica e COVID-19, foi reportado que pacientes hipertensos com infecção por SARS-CoV-2 apresentaram riscos 2,27 e 3,48 vezes maiores de gravidade e fatalidade, respectivamente, em comparação com os casos de COVID-19 sem hipertensão (ZHANG *et al.*, 2020). Estudos chineses demonstraram que dentre os pacientes que desenvolveram a forma grave da COVID-19, a maior proporção correspondia ao grupo de hipertensos (CHEN *et al.*; HUANG *et al.*, 2020). O presente estudo confirma essa proporção visto que os casos de pacientes hipertensas representaram os casos mais graves e dentre o número de óbitos (n=17) quase todas as pacientes (n=12) tinham HAS como comorbidade prévia.

No que se refere às complicações clínicas, estudos indicaram que os hipertensos tinham maior taxa de admissão em unidade de terapia intensiva, apresentando condições clínicas como choque, síndrome do desconforto respiratório agudo e lesão renal aguda, além do maior uso de ventilação mecânica invasiva e não invasiva, além de se mostrarem mais propensos a receber antibióticos e terapias com corticosteroides (HUANG *et al.*; YAO *et al.*, 2020).

Por outro lado, muitas pesquisas identificaram que pacientes hipertensos apresentaram níveis mais altos de hemoglobina, neutrófilos, D-dímero, aspartato aminotransferase (AST), lactato desidrogenase (LDH) e a creatinina quando comparados com os normotensos (OKAY *et al.*; YAO *et al.*; CHENGYI *et al.*, 2020).

Entretanto, também apontaram que pacientes hipertensos apresentaram valores medianos menores de albumina e taxa de filtração glomerular.

Além disso, a maioria dos estudos mostrou que os pacientes hipertensos com diagnóstico de COVID-19 possuíam média de idade superior a 60 anos (HUANG *et al.*, 2020). Os achados do presente estudo possibilitam concordar com as diversas publicações de estudos anteriores, uma vez que a média de idade foi de 68 anos para as pacientes com HAS que evoluíram para COVID-19 grave resultando em óbito. Devido à elevada prevalência mundial da hipertensão arterial sistêmica, era previsível que esse grupo de pessoas apresentassem uma elevada incidência de COVID-19. Agregado a essa condição, a idade também se apresenta como um dos fatores de risco para o desenvolvimento da hipertensão, afirmando-se que no processo fisiológico do envelhecimento ocorrem alterações morfológicas que incluem o enrijecimento progressivo e perda de complacência das grandes artérias além de influenciarem nos níveis da pressão arterial (BARROSO *et al.*, 2020).

Os estudos conduzidos na China desde no início da pandemia sugeriram que pacientes do sexo masculino com hipertensão arterial sistêmica e COVID-19 apresentaram maior susceptibilidade para evoluir para as formas graves da COVID-19, bem como maior probabilidade de ir a óbito do que pacientes do sexo feminino (YANG *et al.*; Li *et al.*, 2020). Uma hipótese proposta para explicar esses achados se atribui a uma possível proteção do cromossomo X e dos hormônios sexuais, que desempenham um papel importante no desenvolvimento inato e adaptativo da imunidade, uma vez que o gene ACE2 está localizado no locus Xp22 no cromossomo X humano, e que a presença de alelos conferiria resistência ao SARS-CoV-2, sendo um mecanismo suposto para explicar a aparente menor susceptibilidade feminina à infecção viral por COVID-19 grave (DEVAUX *et al.*, 2020). A pesquisa aqui apresentada, realizada exclusivamente com pacientes do sexo feminino observou um total 20% de óbitos representados por 17 pacientes sendo que 12 delas tinham como comorbidade principal a HAS associada há pelo menos mais uma outra comorbidade, além da idade avançada.

No que se refere ao tratamento medicamentoso, é possível concluir que o uso de qualquer classe de anti-hipertensivos não foi associado a um maior risco de mortalidade (YAN *et al.*; PAN *et al.*, 2020). Entretanto, é colocado em evidência que pacientes com hipertensão arterial sistêmica sem tratamento anti-hipertensivo

apresentaram maior taxa de mortalidade quando comparados aos pacientes hipertensos com tratamentos anti-hipertensivos (GAO *et al.*, 2020).

Segundo a OPAS, estima-se que 1.130 milhão de pessoas no mundo possuem diagnóstico de hipertensão arterial sistêmica, e menos de uma em cada cinco a tem sob controle. Cientes disso, foi realizado um estudo em 2020 em que foi visualizado que os pacientes hipertensos apresentaram maior propensão de desenvolver a forma grave da COVID-19 quando comparados aos pacientes não hipertensos (HUANG *et al.*, 2020). Além disso, a necessidade de admissão em unidade de terapia intensiva, assim como a necessidade de ventilação não invasiva e invasiva foram maiores nos pacientes hipertensos quando comparados aos pacientes não hipertensos segundo os relatos dos diversos estudos (HUANG *et al.*; OKAY *et al.*; XIONG. *et al.*; PAN *et al.*, 2020). E, quanto a taxa de mortalidade, vários autores observaram que havia um aumento significativo no grupo de hipertensos quando comparados aos normotensos (OKAY *et al.*; YAO *et al.*; YANG *et al.*; LI *et al.*; PAN *et al.*, 2020).

Destaca-se que durante a infecção pela COVID-19 o recrutamento de células imunes pode ser imunomediado ou em resposta pela agressão viral direta ao endotélio, podendo resultar em disfunção endotelial generalizada associada à apoptose (BRANDÃO *et al.*; ZHENG *et al.*, 2020). Contudo, pacientes hipertensos já apresentam um estado pró-inflamatório decorrente da disfunção endotelial relacionada à fisiopatologia da hipertensão arterial sistêmica. Dessa forma, os distúrbios no sistema imunológico e a estimulação inflamatória crônica resultante da hipertensão podem contribuir para a progressão da COVID-19 grave.

Dentre os pacientes acometidos pela COVID-19, conclui-se que quando comparados aos pacientes normotensos, os pacientes hipertensos apresentaram contagens significativamente maiores de D-dímero, neutrófilos, proporção de neutrófilos-linfócitos, leucócitos, lactato desidrogenase (LDH) e creatinina (HUANG *et al.*; OKAY *et al.*; YAO *et al.*, 2020).

Devido ao estado pró-inflamatório da hipertensão arterial sistêmica, ainda pode ocorrer ativação excessiva de vias de coagulação e plaquetas, assim como de células imunes que irão secretar citocinas, peptídeos antimicrobianos e uma variedade de enzimas, além de produzir radicais de oxigênio e outros mediadores para exterminar os patógenos, segundo um estudo anteriormente à pandemia do SARS-CoV-2 (NEWTON *et al.*, 2016).

Contudo, a ativação excessiva dessas células de defesa pode causar danos ao epitélio respiratório, aumentando a resposta inflamatória local e diminuindo a função pulmonar, proporcionando a progressão da COVID-19 (BARNES *et al.*, 2020).

Diante desses dados pode-se constatar que parâmetros alterados, que se apresentam como indicativos de que órgãos internos com altos níveis de expressão da proteína ECA2, como pulmão, rim e coração, podem ser mais vulneráveis à invasão e lesão pelo SARS-CoV-2. Também observa-se que pacientes hipertensos tendem a desenvolver COVID-19 mais grave, não apenas por meio de tempestades inflamatórias graves, mas também por meio de proteção reduzida contra lesão de órgão devido a desequilíbrios no sistema ECA. Assim, o atraso no diagnóstico e admissão hospitalar pode resultar em um risco aumentado de desenvolver a forma grave da COVID-19 ou até mesmo levar a morte.

Por fim, é necessário destacar que muitas doenças crônicas, incluindo a hipertensão arterial sistêmica, partilham mecanismos que levam a um estado pró-inflamatório e atenuação da resposta imunológica. Dessa forma, o organismo não poderia controlar efetivamente o vírus na fase inicial, o que levaria ao agravamento da doença em pacientes com COVID-19. No entanto, além da presença da hipertensão arterial em indivíduos com COVID-19, deve-se levar em consideração outros fatores como o envelhecimento, comorbidades adjacentes, histórico de adesão ao tratamento medicamentoso e hábitos de vida não saudáveis que podem influenciarem o controle da hipertensão e conseqüentemente para o agravamento da COVID-19.

Os resultados encontrados também sugerem que a hipertensão arterial está associada a um risco aumentado do desenvolvimento da forma grave da COVID-19 e aumento da mortalidade (RICARDO *et al.*, 2022). No entanto, ainda são escassos os estudos que abordem os efeitos nos resultados de pacientes hipertensos e a infecção pelo SARS-CoV-2 quanto à adesão prévia no uso de medicamentos anti-hipertensivos anterior à infecção pela COVID-19, bem como analisar a presença de outras comorbidades preexistentes em pacientes com hipertensão acometidos pela COVID-19 e como essas doenças associadas podem contribuir na evolução para forma grave. O presente estudo demonstra que a associação da HAS com outras comorbidades somadas à infecção por SARS-CoV-2 e ao envelhecimento podem evoluir rapidamente para doença crítica resultando em óbito.

Além disso, reforça-se que é necessária a realização de estudos estratificados por sexo para esclarecer a aparente maior suscetibilidade do sexo masculino à evolução da forma grave da infecção pelo SARS-CoV-2 (RICARDO *et al.*, 2022). O presente estudo foi realizado apenas com pacientes do sexo feminino e demonstrou relevância entre a presença de HAS como comorbidade principal nas pacientes acometidas pela COVID-19 e a possibilidade de evolução na gravidade da doença.

É essencial em estudos futuros a inclusão da análise de variáveis individuais que possam influenciar no desfecho de pacientes com hipertensão arterial sistêmica infectados pelo SARS-CoV-2, como fatores genéticos, raça/etnia, ocupação, hábitos de vida, além da avaliação do grau educacional e diagnóstico da situação socioeconômica e ambiental.

## 7.5 OBESIDADE

A obesidade é outro fator de risco para sintomatologia mais severa da COVID-19 (presente em 46% dos gravemente enfermos), ainda mais quando associada à diabetes (CUMMINGS *et al.*; SIMONNET *et al.*, 2020). A redução do volume e/ou complacência pulmonar e a maior resistência das vias aéreas estão incluídas entre os efeitos negativos da obesidade sobre a função pulmonar (MCCLEAN *et al.*, HIBBERT *et al.*, 2012). O aumento da adiposidade, também, está associado a alterações em múltiplas citocinas, quimiocinas e adipocinas (RAJALA *et al.*, 2003; MCCLEAN *et al.*, 2008). As citocinas pró-inflamatórias (TNF $\alpha$ , IL-6, IL-8, leptina e adiponectina), por sua vez, tem o potencial de exacerbar a já exuberante resposta inflamatória observada nesta doença viral.

Este estudo pode afirmar que dentre todas as comorbidades avaliadas, a obesidade produziu o maior número de interações entre as variáveis admissão e saída hospitalar estudadas dentro dos parâmetros hematológicos laboratoriais propostos e que a presença de obesidade aumentou as estimativas de grande parte dessas variáveis. Essas alterações nos dados populacionais celulares, RNL e D-dímero muito provavelmente estão relacionadas à tempestade de citocinas somada ao processo pró-inflamatório sistêmico, característico dessa comorbidade. Mesmo assim a obesidade não foi considerada a doença associada à COVID-19 que demonstrou as alterações mais significativas nas variáveis de reposta (RNL; D-dímero; WBC) de impacto do nosso estudo.

Porém foi a comorbidade que apresentou um  $p = 0,0686$  no teste qui - quadrado na diferenciação entre doença moderada e grave, apesar da representatividade pequena ( $n=16$ ) dentro do grupo das pacientes doentes.

Contudo, a obesidade ainda representa uma comorbidade importante não só associada à COVID-19, mas como uma doença de base que acomete cada vez mais adultos jovens diminuindo a qualidade de vida e contribuindo para agravar principalmente doenças infecciosas que os pacientes obesos possam vir a contrair ao longo do tempo. Portanto, afirma-se que pacientes com obesidade também devem ser incluídos como potencialmente susceptíveis à infecção pelo novo coronavírus (KOWK *et al.*, 2020). Os mecanismos pelos quais essa comorbidade pode influenciar os resultados adversos da COVID-19 incluem a inflamação crônica, o comprometimento da função respiratória e da perfusão pulmonar, a desregulação imunológica, as complicações metabólicas e vasculares da obesidade e as relativas alterações endócrinas que surgem como resultado de mudanças nos eixos hormonais hipotálamo-hipofisários, como hipogonadismo, hipotireoidismo e deficiência de cortisol.

## 7.6 DPOC

A doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) é uma doença inflamatória, progressiva, heterogênea e complexa, caracterizada pelo estreitamento das vias aéreas, especialmente das pequenas vias aéreas pulmonares, onde o processo de remodelamento acarreta lesões pulmonares causadas pela bronquite crônica, enfisema e pela hipertensão pulmonar (BRASHIER *et al.*; KODGULE *et al.*, 2012; HOGG *et al.*; TIMENS *et al.* 2009). Apesar de divergências quanto à definição da doença, podemos utilizar a diretriz preconizada pelo Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Diseases, (GOLD, 2021). Segundo essa diretriz a doença pulmonar obstrutiva crônica é considerada uma patologia evitável e que possui tratamento, caracterizada pela presença persistente de sintomas respiratórios e limitação do fluxo de ar.

O principal fator de risco associado ao desenvolvimento da doença é o tabagismo, presente em cerca de 85% dos casos, sendo seu efeito nos pulmões dependente de uma série de fatores, como a quantidade de cigarros fumados, tamanho e número de tragadas por cigarro, entre outros (BRASHIER *et al.*, KODGULE *et al.*, 2012; HOGG *et al.*; TIMENS *et al.*, 2009). Apesar do hábito de fumar ser o mais frequentemente associado a DPOC, existem outras condições que também levam ao seu desenvolvimento, como tuberculose, exposição ocupacional e infecções pulmonares frequentes durante a infância (FORBES *et al.*, 2009; HOPKINSON *et al.*; POLKEY *et al.*, 2015).

O presente estudo não obteve um resultado significativo com relação aos parâmetros laboratoriais hematológicos analisados nas pacientes que apresentavam DPOC como comorbidade concomitantemente com a infecção pelo SARS-CoV-2 e quando analisado quanto à gravidade do COVID-19 comparando casos moderados com casos graves também não houve diferença considerável sendo encontrado  $p = 0,7252$  resultado do teste T exato de Fisher. Acredita-se que esse resultado não expressivo seja devido à baixa porcentagem de pacientes com DPOC incluídas no estudo (11%) além de que os sintomas característicos da DPOC se assemelham muito com os sintomas da COVID-19. E com relação aos 17 óbitos computados nessa casuística, apenas 3 pacientes apresentavam DPOC, mas não como comorbidade isolada e sim associada a HAS, DM, obesidade, entre outras patologias.

## 7.7 GENOTIPAGEM

Quanto aos genótipos pode ser concluído que não influenciou a evolução dos casos mais graves. Porém, ressalta-se que a amostragem estudada (60 amostras testadas) é reduzida para essa análise visto que 11 amostras foram inconclusivas. No Brasil, o surgimento da variante gamma em Manaus (AM), entre dezembro de 2020 e janeiro de 2021, representou preocupação das autoridades sanitárias do país, visto que ocorreu um pico nas taxas de infecção por SARS-COV-2 e nas taxas de mortalidade em todo o país devido á rápida disseminação desta variante. No presente estudo apresentou-se 34 (57%) pacientes com a variante Gamma, sendo que 70% dessas 34 pacientes tinham idades entre 20 e 60 anos, evidenciando a contaminação de uma população mais jovem.

## 8 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Esse estudo apresentou algumas limitações como a presença de outras infecções concomitantes com a COVID-19 em algumas pacientes selecionadas para o estudo que foram excluídas. Esse fator da presença de outros agentes etiológicos associados à infecção por SARS-CoV-2, principalmente nos casos de infecção hospitalar, impacta diretamente no resultado do hemograma. Isso porque, além de trazer informações indicando que a presença de infecção seja de caráter viral, bacteriano ou fúngico, ainda retrata a evolução dessas infecções e a resposta ao tratamento empregado.

Outra limitação foi a não inclusão de homens, que, de acordo com a literatura, representaram os casos de maior gravidade.

## 9 PONTOS FORTES DO ESTUDO

- I. O hemograma é um exame de rotina laboratorial de baixo custo, amplamente realizado, com resultados rápidos para diagnóstico e acompanhamento de pacientes, seja em ambiente ambulatorial ou hospitalar.
- II. O hemograma é um excelente indicador da presença de infecções, somado a outros marcadores laboratoriais auxilia o clínico na triagem e diagnóstico de diversas patologias.
- III. O D-dímero, a linfopenia e a leucocitose desempenham um papel importante na triagem da gravidade da COVID-19. Além disso, é considerado por muitos pesquisadores um exame de triagem na investigação de casos de trombose.

## 10 CONCLUSÕES

O presente estudo trouxe informações importantes que possibilitam concluir que os parâmetros laboratoriais hematológicos representam boas ferramentas de triagem para os casos da COVID-19, trazendo informações na admissão das pacientes que podem auxiliar na classificação dos casos de maior gravidade.

Na avaliação e diferenciação da gravidade destacam-se os parâmetros leucocitários que envolvem não só a contagem global de leucócitos e suas características celulares, mas também o diferencial leucocitário representado pela presença marcante de linfopenia e pela neutrofilia presente já nos estágios iniciais da evolução da doença.

A presença de comorbidades e a idade avançada são fatores de risco que contribuem para maior gravidade da doença. Entre as principais comorbidades estudadas, ressalta-se que a presença de Hipertensão Arterial Sistêmica influenciou grande parte dos casos que evoluíram à óbito, (cerca de 70%). E que a Obesidade representa risco maior para gravidade da COVID-19, independentemente da idade das pacientes.

Por fim conclui-se que a genotipagem não influenciou a gravidade da doença e tão pouco o desfecho.

## REFERÊNCIAS

- ABDULLAH F, MYERS J, BASU D, et al. Diminuição da gravidade da doença durante o primeiro surto global da variante omicron de covid-19 num grande hospital em Tshwane, na África do Sul. **Int J Infect Dis** 2022; 116:38.
- ABU-ASHOUR, W.; TWELLS, L. K.; VALCOUR, J.E.; GAMBLE, J.M. Diabetes and the occurrence of infection in primary care: a matched cohort study. **BMC Infectious Diseases**. 2018; 18, 67.
- ACOG. American College of Obstetricians and Gynecologists. **Practical advisory**. 2019. Disponível em: <<https://www.acog.org/clinical/clinical-guidance/practice-advisory/articles/2020/03/novel-Coronavirus-20>>. Acesso em: 03 mar. 2021.
- ADAMOSKI D, DE OLIVEIRA JC, BONATTO AC, et al. Large-Scale Screening of Asymptomatic Persons for SARS-CoV-2 Variants of Concern and Gamma Takeover, Brazil. **Emerg Infect Dis**. v.27(12):3124-3127, 2021
- ALSEREHI, H.; WALI, G.; ALSHUKAIRI, A.; ALRADDADI, B. Impact of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) on pregnancy and perinatal outcome. **BMC Infect Dis**. 2016; 16:105.
- ARBEL, R.; WOLFF SAGY, Y.; HOSHEN, M.; BATTAT, E.; LAVIE, G.; SERGIENKO, R.; FRIGER, M.; WAXMAN, J. G.; DAGAN, N.; BALICER, R.; BEN-SHLOMO, Y.; PERETZ, A.; YARON, S.; SERBY, D.; HAMMERMAN, A.; NETZER, D. (2022). Nirmatrelvir Use and Severe Covid-19 Outcomes during the Omicron Surge. **The New England journal of medicine**, 387(9), 790-798. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2204919>>. Acesso em: 15 nov. 2022.
- ARONS MM, HATFIELD KM, REDDY SC, et al. Infecções pré-sintomáticas por SARS-CoV-2 e transmissão em uma unidade de enfermagem especializada. **N Engl J Med** 2020; 382:2081.
- ASSIRI, A.; ABEDI, G.R.; AL MASRI, M.; BIN SAEED, A.; GERBER, SI.; WATSON, JT. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infection During Pregnancy: A Report of 5 Cases From Saudi Arabia. **Clin Infect Dis**. 2016;63(7):951-3.
- BAGGETT TP, KEYES H, SPORN N, GAETA JM. Prevalência de infecção por SARS-CoV-2 em residentes de um grande abrigo para moradores de rua em Boston. **JAMA** 2020; 323:2191.
- BARNES, B.J.; ADROVER, J. M.; BAXTER-STOLTZFUS, A.; BORCZUK, A.; COOLS-LARTIGUE, J.; CRAWFORD, J.M.; et al. Targeting potential drivers of COVID-19: neutrophil extracellular traps. **J Exp Med**. 2020;217(6):e20200652. 10.1084/jem.20200652.

BARON, M.; *et al.* A single-cell transcriptomic map of the human and mouse pancreas reveals inter- and intra-cell population structure. **Cell System**. 2016; 3: 346-360. e344. 72.

BARROSO, W.K.S.; FEITOSA, A. D. M.; BARBOSA, E. C. D.; MIRANDA, R. D.; VITORINO, P. V. O.; BRANDÃO, A. A.; *et al.* Prevalence of Masked and White-Coat Hypertension in Pre-Hypertensive and Stage 1 Hypertensive patients with the use of TeleMRPA. **Arq Bras Cardiol**. 2019;113(5):970-5.

BELLMANN-WEILER, R.; LANSER, L.; BARKET, R.; *et al.* Prevalência e valor preditivo de anemia e homeostase de ferro desregulada em pacientes com infecção por COVID-19. **J Clin Med** 2020; 9.

BRANDÃO, S. C. S.; GODOI, E. T. A. M.; RAMOS, J. O. X.; MELO, L. M. M. P.; SARINHO, E. S. C. COVID-19 grave: entendendo o papel da imunidade, do endotélio e da coagulação na prática clínica. **J Vasc Bras**. 2020;19:e20200131. 10.1590/1677-5449.200131

BREST, P.; REFAE, S.; MOGRABI, B.; HOFMAN, P.; MILANO, G. (2020). Polimorfismos do hospedeiro podem afetar a infecciosidade do SARS-CoV-2. **Tendências Genet**. 36 , 813-815. 10.1016/j.tig.2020.08.003.

BUORO, S.; SEGHEZZI, M.; VAVASSORI, M.; *et al.* Clinical significance of cell population data (CPD) on Sysmex XN-9000 in septic patients with or without liver impairment. **Ann Transl Med**. 2016; 4: 418.

BUORO, S.; MANENTI, S.; SEGHEZZI, M.; *et al.* Abnormal scattergrams and cell population data generated by fully automated hematological analyzers: new tools for screening malaria infection? **Int J Lab Hem**. 2018; 40(3): 326-334.

CAMPBELL, K. H.; TORNATORE, J. M.; LAWRENCE, K. E.; *et al.* Prevalência de SARS-CoV-2 entre pacientes admitidos para parto no sul de Connecticut. **JAMA** 2020; 323:2520.

CAP.COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS, Commission on Laboratory Accreditation. 2015.Hematology automation. **College of American Pathologists**, Northfield, IL.

CAREY, I. M.; *et al.* Risk of infection in type 1 and type 2 diabetes compared with the general population: a matched cohort study. **Diabetes Care**. 2018; 41: 513- 521.

CASAGRANDE-GUILGER M, DE BARROS CT, ANTUNES VA, DE ARAUJO DR, LIMA R. Perspectives and challenges in the fight against COVID-19: the role of genetic variability. **Front Cell Infect Microbiol**. 2021; 11: 150

CATES J, LUCERO-OBUSAN C, DAHL RM, *et al.* Risco de complicações intra-hospitalares associadas à COVID-19 e gripe — Veterans Health Administration, Estados Unidos, 1º de outubro de 2018 a 31 de maio de 2020. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 202;69:1528.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS) and Coronavirus Testing – United States, 2003.. **MMWR**. 2003;52:297-302.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2013. Update: Severe respiratory illness associated with Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) worldwide, 2012-2013. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**. 2013;62(23):480

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention**. Underlying medical conditions associated with high risk for severe COVID-19: Information for healthcare providers. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-care/underlyingconditions.html>>. Acesso em: 15 nov. 2021.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention. Science brief**: Evidence used to update the list of underlying medical conditions that increase a person's risk of severe illness from COVID-19. Disponível em: <<https://stacks.cdc.gov/view/cdc/106171>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention**. Risk for COVID-19 infection, hospitalization, and death by age group. Disponível em: <<https://stacks.cdc.gov/view/cdc/116835>>. Acesso em: 17 ago. 2023.

CDC. **Centers for Disease Control and Prevention**. Interim Considerations for Infection Prevention and Control of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Inpatient Obstetric Healthcare Settings. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/Coronavirus/2019-ncov/hcp/inpatient-obstetric-healthcare-guidance.html>>. Acesso em: 18 nov. 2020.

CHEN, H.; GUO, J.; WANG, C.; *et al*. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. **Lancet**. Published online February 12, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3.

CHEN, N.; ZHOU, M.; DONG, X.; *et al*. Epidemiological And Clinical Characteristics Of 99 Cases Of 2019 Novel Coronavirus Pneumonia In Wuhan, China: **A Descriptive Study**. **Lancet** 2020; 395:507.

CHEN R, YANG J, GAO X, DING X, YANG Y, SHEN Y, et al. Influence of blood pressure control and application of renin-angiotensin-aldosterone system inhibitors on the outcomes in COVID-19 patients with hypertension. **J Clin Hypertens**. 2020;22(11):1974-83. 10.1111/jch.14038

CHENGYI HU, LUSHAN X, HONGBO Z, YANPEI Z, WENFENG Z, LI L, et al. [Effect of hypertension on outcomes of patients with COVID-19]. **Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao**. 2020;40(11):1537-42. Chinese.

CRISTINA, SIMONE & BRANDÃO, SIMONE & TENÓRIO, EMMANUELLE & RAMOS, OLIVEIRA & MELO, LEILA & SÁVIO, EMANUEL & SARINHO, CAVALCANTI. (2020).

**Ebook Covid-19-imunidade-endotelio-e-coagulacao-compreenda-a-interacao**  
Maio-2020. Acesso em : 20 out 2022.

CHOW, N.; *et al.* Preliminary estimates of the prevalence of selected underlying health Conditions among patients with Coronavírus disease 2019 - United States, **Morbidity and Mortality Weekly Report**. 2020 Apr 3; 69 (13): 382-386.

CUMMINGS, M. J.; *et al.* Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study. **Lancet**. 2020; 395: 1763-1770.

DAGAN, N.; BARDA, N.; KEPTEN, E; *et al.* BNT162b2 Mrna Covid-19 Vaccine In A Nationwide Mass Vaccination Setting. **N Engl J Med** 2021; 384:1412.

DA SILVA, PH; ALVES, HB; COMAR, SR; **Hematologia Laboratorial**. Porto Alegre: Grupo A, 2015.

DENNIS, J. M.; MCGOVERN, A. P.; VOLLMER, S. J.; MATEEN, B. A. Melhorando A Sobrevivência De Pacientes Em Cuidados Intensivos Com Doença Por Coronavírus 2019 Na Inglaterra: **Um Estudo De Coorte Nacional**, Março A Junho De 2020. *Crit Care Med* 2021; 49:209.

DESIDERIO, V. L.; FABIO, V.; CARNIO, E. C. Godoy, S. de, Silva, H. B., & Marchi-Alves, L. M. (2021). Variáveis associadas ao desfecho clínico de pacientes hospitalizados por COVID-19. **Revista De Medicina**, 100(5), 431-441.  
<<https://doi.org/10.11606/issn.1679-9836.v100i5p431-441>>. Acesso em: 15 nov.2023.

DEVAUX, C. A.; ROLAIN, J. M.; RAOULT, D. 2020. Polimorfismo do receptor ACE2: suscetibilidade ao SARS-CoV-2, hipertensão, falência de múltiplos órgãos e resultado da doença COVID-19. **J. Microbiol. imunol. Infectar**. 53, ... 425-435. 10.1016/j.jmii.2020.04.015.

DUARTE, G.; QUINTANA, S. M.; CARVALHO, R. C.; MARCOLIN, A. C.; MOISÉS, E. C. D.; COSTA, F. S. **Plano de contingência para controle da disseminação do SARS-Cov-2 no Setor de Obstetrícia do Departamento de Ginecologia e Obstetrícia e do Hospital das Clínicas da FMRP-USP**. Disponível em:  
<[http://10.165.5.50/intranet/download/Plano%20COVID\\_Obstetr%C3%ADcia%20F%2026-03%20\(2\)%20\(1\)1\\_26032020152849.pdf](http://10.165.5.50/intranet/download/Plano%20COVID_Obstetr%C3%ADcia%20F%2026-03%20(2)%20(1)1_26032020152849.pdf)>. Acesso em: 15 nov. 2022.

DU Y, ZHOU N, ZHA W, LV Y. Hypertension is a clinically important risk factor for critical illness and mortality in COVID-19: a meta-analysis. **Nutr Metab Cardiovasc Dis**. 2021;31(3):745-55. 10.1016/j.numecd.2020.12.009

EIZIRIK, D. L.; DARVILLE, M. I. Beta-cell apoptosis and defense mechanisms: lessons from type 1 diabetes. **Diabetes** (2001); 50:S64-S69.

EQUIPE DE PREVISÃO COVID-19. Variação na taxa de mortalidade por infecção por COVID-19 por idade, tempo e geografia durante a era pré-vacina: uma análise sistemática. **Lanceta** 2022; 399:1469.

FANG, L.; KARAKIULAKIS, G.; ROTH, M. Are patients with hypertension and diabetes mellitus at increased risk for COVID-19 infection? **The Lancet Respiratory Medicine**. 2020; 8: e21.

FLEURY, M. K. A COVID-19 e o laboratório de hematologia: uma revisão da literatura recente. **A Tempestade do Coronavírus**. v. 52, n. 2, p. 131-7, 2020.

FORBES, L J L; KAPETANAKIS, V; RUDNICKA, A R; COOK, D G; BUSH, T; STEDMAN, J R; WHINCUP, P H; STRACHAN, D P; ANDERSON, H R. Chronic exposure to outdoor air pollution and lung function in adults. **Thorax**, [S.L.], v. 64, p. 657-663, 2009.

FURUNDARENA, J. R.; ARAIZ, M.; URANGA, M.; SAINZ, M. R.; AGIRRE, A.; TRASSORRAS, M.; *et al.* The utility of the Sysmex XE-2100 analyzer's NEUT-X and NEUT-Y parameters for detecting neutrophil dysplasia in myelodysplastic syndromes. **Int J Lab Hematol** 2010;32:360-6.

GANATRA, S.; DANI, S. S.; AHMAD, J.; KUMAR, A.; SHAH, J.; ABRAHAM, G. M.; Mcquillen, D. P.; WACHTER, R. M.; SAX, P. E. 2023. Oral Nirmatrelvir and Ritonavir in Nonhospitalized Vaccinated Patients With Coronavírus Disease 2019. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 76(4), 563-572. <https://doi.org/10.1093/cid/ciac673>.

GAO Y, LI T, HAN M, LI X, WU D, XU Y, *et al.* Diagnostic utility of clinical laboratory data determinations for patients with the severe COVID-19. **J Med Virol**. 2020 Jul;92(7):791-796. doi:10.1002/jmv.25770

GARG, S.; PATEL, K.; PHAM, H.; *et al.* Tendências Clínicas Entre Adultos Norte-Americanos Hospitalizados Com COVID-19, Março A Dezembro De 2020: Um Estudo Transversal. **Ann Intern Med** 2021; 174:1409.

GHEBLAWI, M.; WANG, K.; VIVEIROS, A.; NGUYEN, Q.; ZHONG, J. C.; TURNER, A. J.; *et al.* 2020. Enzima Conversora de Angiotensina 2: Receptor SARS-CoV-2 e Regulador do Sistema Renina-Angiotensina: Comemorando o 20º Aniversário da Descoberta do ACE2. **Circ. Res.** 126, 1456-1474. 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.

GOLD. Global initiative for chronic obstructive lung disease. (2021). Global Strategy for Prevention, Diagnosis and Management of COPD. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas: Doença pulmonar obstrutiva crônica. Brasília: Ministério da Saúde/Conitec, 2021

GORBALENYA, A. E.; BAKER, S. C.; BARIC, R. S.; *et al.* Severe acute respiratory syndrome-related Coronavírus: The species and its viruses – a statement of the Coronavírus Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. **Bio Rev xiv preprint**.

GOYAL, P.; CHOI, J. J.; PINHEIRO, L. C.; *et al.* Características Clínicas da Covid-19 Na Cidade De Nova York. **N Engl J Med** 2020; 382:2372.

GUAN, W. J.; NI, Z. Y.; HU, Y.; *et al.* Características Clínicas da Doença por Coronavírus 2019 Na China. **N Engl J Med** 2020; 382:1708.

GURWITZ D. Angiotensin receptor blockers as tentative SARS-CoV-2 therapeutics. **Drug Dev Res.** 2020 Mar 4. doi: 10.1002/ddr.21656

HAAS, E. J.; ÂNGULO, F. J.; MCLAUGHLIN, J. M.; *et al.* Impact And Effectiveness Of Mrna BNT162b2 Vaccine Against SARS-Cov-2 Infections And COVID-19 Cases, Hospitalisations, And Deaths Following A Nationwide Vaccination Campaign In Israel: An Observational Study Using National Surveillance Data. **Lancet** 2021; 397:1819.

HAVERS, F. P.; PHAM, H.; TAYLOR, C. A.; *et al.* COVID-19-Associated Hospitalizations Among Vaccinated And Unvaccinated Adults 18 Years Or Older In 13 US States, January 2021 To April 2022. **JAMA Intern Med** 2022; 182:1071.

HENRY, B. M.; LIPPI, G.; PLEBANI, M. Laboratory abnormalities in children with novel Coronavírus disease 2019. **Clin Chem Lab Med.** 2020;58 (7):1135-1138. doi:10.1515/cclm-2020-0272.

HENRY, B. M. *et al.* Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in Coronavírus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.** v. 58, n. 7, p. 1021-1028, 2020.

HENRY, B. M.; CHERUIYOT, I.; VIKSE, J.; *et al.* Lymphopenia and neutrophilia at admission predicts severity and mortality in patients with COVID-19: a meta- analysis. **Acta Biomed.** 2020; 91:e2020008.

HIBBERT, K.; RICE, M. Malhotra A. **Obesity and ARDS – Chest.** 2012; 142: 785-90.

HIPPCHEN T, ALTAMURA S, MUCKENTHALER MU, MERLE U. Hypoferremia is Associated With Increased Hospitalization and Oxygen Demand in COVID-19 Patients. **Hemasphere.** 2020 Nov 10;4(6):e492. doi: 10.1097/HS9.0000000000000492. PMID: 33205000; PMCID: PMC7665253

HIRANO, T.; MURAKAMI, M. 2020. **COVID-19:** um novo vírus, mas um receptor familiar e síndrome de liberação de citocinas. *Imunidade* 52, 731-733. 10.1016/j.immuni.2020.04.003.

HOFFAMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; *et al.* **SARS-Cov-2 Cell Entry Depends On ACE2 And TMPRSS2 And Is Blocked By A Clinically Proven Protease Inhibitor.** *Cell* 2020; 181:271.

HOGG JC, TIMENS W. The pathology of chronic obstructive pulmonary disease. **Annu Rev Pathol.** 2009;4:435-59. doi: 10.1146/annurev.pathol.4.110807.092145. PMID: 18954287

HU, Z.; CANÇÃO, C.; XU, C.; *et al.* Características Clínicas De 24 Infecções Assintomáticas Por COVID-19 Examinadas Entre Contatos Próximos Em Nanjing, China. **Ciência China Vida Ciência** 2020; 63:706.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel Coronavirus in Wuhan, China. **Lancet**. 2020;395(10223):497-506. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

HUANG S, WANG J, LIU F, LIU J, CAO G, YANG C, *et al.* COVID-19 patients with hypertension have more severe disease: a multicenter retrospective observational study. **Hypertens Res**. 2020;43:824-31.

HUANG, Y.; HUANG, W.; MAI, W.; CAI, X.; AN, D.; LIU, Z.; *et al.* White-coat hypertension is a risk factor for cardiovascular diseases and total mortality. **J Hypertens**. 2017;35(4):677-88.

IOANNIDIS JPA. Reconciliando estimativas de propagação global e taxas de mortalidade por infecção da COVID-19: Uma visão geral das avaliações sistemáticas. **Eur J Clin Invest** 2021; 51:e13554.

IOANNOU, G. N.; LOCKE, E. R.; O'HARE, A. M.; *et al.* COVID-19 Vaccination Effectiveness Against Infection Or Death In A National U.S. Health Care System: A Target Trial Emulation Study. **Ann Intern Med** 2022; 175:352.

ILLUMINA TM ,CA,EUA ILLUMINA, I. Quality Scores for Next-Generation Sequencing. Technical Note: Informatics. Acesso em 31 out. 2021

IDSA - Infectious Diseases Society of America ,2021  
Disponível em :<https://www.idsociety.org/public-health/covid-19/> .Acesso em 22 out. 2022.

JAPANESE NATIONAL INSTITUTE OF INFECTIOUS DISEASES (NIID JAPAO). Field Briefing: Diamond Princess COVID-19 Cases, 20 Feb Update. Disponível em: <<https://www.niid.go.jp/niid/en/2019-ncov-e/9417-covid-dp-fe-02.html>>. Acesso em: 01 mar. 2020.

JIANG, HW., LI, Y., ZHANG, HN. *et al.* SARS-CoV-2 proteome microarray for global profiling of COVID-19 specific IgG and IgM responses. **Nat Commun** 11, 3581 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-17488-8>

JIN, Y.; YANG, H.; JI, W.; WU, W.; CHEN, S.; ZHANG, W.; *et al.* Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. **Viruses**. 2020 Mar;12(4).

JOSHI, N.; CAPUTO, G. M.; WEITEKAMP, M. R.; KARCHMER, A. W. Infections in patients with diabetes mellitus. **New England Journal of Medicine**. 1999; 341: 1906-1912.

KASPER, M. R.; GEIBE, J. R.; SEARS, C. L.; *et al.* Um surto de Covid-19 em um porta-aviões. **N Engl J Med** 2020; 383:2417.

KLEBANOFF, S. J. Myeloperoxidase: friend and foe. **J Leukoc Biol** 2005;77:598-625.

KODGULE R, SALVI S. Exposure to biomass smoke as a cause for airway disease in women and children. **Curr Opin Allergy Clin Immunol**. 2012;12(1):82-90. <http://dx.doi.org/10.1097/ACI.0b013e32834ecb65>

KOMPANIYETS L, PENNINGTON AF, GOODMAN AB, ROSENBLUM HG, BELAY B, KO JY, CHEVINSKY JR, SCHIEBER LZ, SUMMERS AD, LAVERY AM, PRESTON LE, DANIELSON ML, CUI Z, NAMULANDA G, YUSUF H, MAC KENZIE WR, WONG KK, BAGGS J, BOEHMER TK, GUNDLAPALLI AV. Underlying Medical Conditions and Severe Illness Among 540,667 Adults Hospitalized With COVID-19, March 2020- March 2021. **Prev Chronic Dis**. 2021 Jul 1;18:E66. doi: 10.5888/pcd18.210123. PMID: 34197283; PMCID: PMC8269743

KWOK, S.; ADAM, S.; HO, J. H.; IQBAL, Z.; TURKINGTON, P.; RAZVI, S.; *et al*. Obesity: a critical risk factor in the COVID-19 pandemic. **Clin Obes**. 2020;10(6):e12403. doi: 10.1111/cob.12403.

LAFFEL, L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**. 1999; 15: 412-426.

LAPIĆ, I.; BRENČIĆ, T.; ROGIĆ, D.; LUKIĆ, M.; LUKIĆ, I.; KOVAČIĆ, M.; HONOVIĆ, L.; ŠERIĆ, V. Cell population data: Could a routine hematology analyzer aid in the differential diagnosis of COVID-19? **Int J Lab Hematol**. 2021 Apr;43(2):e64-e67. doi: 10.1111/ijlh.13368. Epub 2020 Oct 20. PMID: 33079479.

LETIZIA, A. G.; RAMOS, I.; OBLA, A.; *et al*. SARS-Cov-2 Transmission Among Marine Recruits During Quarantine. **N Engl J Med** 2020; 383:2407.

LI J, WANG X, CHEN J, ZHANG H, DENG A. Association of renin-angiotensin system inhibitors with severity or risk of death in patients with hypertension hospitalized for coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection in Wuhan, China. **JAMA Cardiol**. 2020;5(7):825-30.

LI, Q.; GUAN, X.; WU, P.; *et al*. Early Transmission dynamics in Wuhan - China, of novel Coronavirus-infected pneumonia. **N Engl J Med**. 2020 Jan 29. doi: 10.1056/NEJMoa2001316.

Li X, Zai J, Zhao Q, Nie Q, Li Y, Foley BT, et al. Evolutionary history, potential intermediate animal host, and cross-species analyses of SARS-CoV-2. **J Med Virol**. 2020 Feb

LIPPI, G.; PLEBANI, M.; HENRY, B. M. Thrombocytopenia is associated with severe Coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A meta-analysis. **Clin Chim Acta**. 2020 Jul;506:145-148. doi: 10.1016/j.cca.2020.03.022.

LIPPI, G.; PLEBANI, M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. **Clin Chem Lab Med**. 2020;58(7):1131-1134. doi: 10.1515/cclm-2020-0198.

- LIPPI, G.; PLEBANI, M. The critical role of laboratory medicine during Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. **Clin Chem Lab Med.** 2020;58(7):1063-1069. doi: 10.1515/cclm-2020-0240.
- LIU, Y.; CHEN, H.; TANG, K.; GUO, Y. Clinical manifestations and outcome of SARS-CoV-2 infection during pregnancy. **J Infect.** 2020. pii:S0163-4453(20)30109-2. doi: 10.1016/j.jinf.2020.02.028.
- LU, R.; ZHAO, X.; LI, J.; *et al.* Genomic characterization and epidemiology of 2019 novel Coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. **Lancet.** 2020 Jan 30. pii: S0140-6736(20)30251-8. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- MA, Q.; LIU, J.; LIU, Q.; *et al.* Global Percentage Of Asymptomatic SARS-Cov-2 Infections Among The Tested Population And Individuals With Confirmed COVID-19 Diagnosis: A Systematic Review And Meta-Analysis. **JAMA Netw Open** 2021; 4:E2137257.
- MAHMUDPOUR, M.; ROOZBEH, J.; KESHAVARZ, M.; FARROKHI, S.; NABIPOUR I. 2020. **Tempestade de citocinas COVID-19: a raiva da inflamação.** *Citocina* 133, e155151. 10.1016/j.cyto.2020.155151.
- MALIK, Y. A. Properties of coronavirus and SARS-CoV-2. **Malaysian Journal of Pathology**, v. 42, n. 1, p. 3-11, 2020.
- MASCARELLO, KC. *et al.* Hospitalização e morte por COVID-19 e sua relação com determinantes sociais da saúde e morbidades no Espírito Santo: um estudo transversal. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, n. 3. Jul. 2021.
- MCCLEAN, K. M.; KEE, F.; YOUNG, I. S. Elborn JS. Obesity and the lung: 1. **Epidemiology – Thorax.** 2008; 63: 649-654.
- MCCOWEN, K. C.; MALHOTRA, A.; BISTRAN, B. R. Stress-induced hyperglycemia. **Critical Care Clinics.** 2001; 17: 107-124.
- MCCOWEN KC, MALHOTRA A, BISTRAN BR. Stress-induced hyperglycemia. **Critical Care Clinics.** 2001; 17: 107-124.
- MCNAMARA, L. A.; WIEGAND, R. E.; BURKE, R. M.; *et al.* Estimating the early impact of the US COVID-19 vaccination programme on COVID-19 cases, emergency department visits, hospital admissions, and deaths among adults aged 65 years and older: an ecological analysis of national surveillance data. **Lancet** 2022; 399:152.
- MEDCALC Statistical Software version 20.218 (MedCalc Software bv, Ostend, Belgium 2022) Disponível em : <https://www.medcalc.org>. Acesso em abr. 2022.

MEYEROWITZ-KATZ G.,MERONE L. Uma revisão sistemática e metanálise de dados de pesquisa publicadas sobre taxas de mortalidade por infecção por COVID-19. *Int J Infect Dis* 2020;101:138.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL (MS). **Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus (2019-nCoV)**. Disponível em: <<https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/11/protocolo-manejo-Coronavirus.pdf>>. Acesso em: 28 mar. 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL (MS). **Novo coronavírus: o que é, causas, sintomas, tratamento, diagnóstico e prevenção**. Disponível em: <<http://saude.gov.br/saude-de-a-z/Coronavirus>>. Acesso em: 20 nov. 2022.

MINISTERIO DA SAUDE (MS). **Painel Coronavírus**. Brasília - Distrito Federal. Disponível em <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em: 20 dez. 2021. CAI, YQ. et al. Prognostic value of neutrophil-to-lymphocyte ratio, lactate dehydrogenase, D-dimer, and computed tomography score in patients with coronavirus disease 2019. *Aging*, v.13, n.17, p. 20896-20905. Set. 2021

MINISTÉRIO DA SAÚDE (MS). **Painel Coronavírus**. Brasília-Distrito Federal. Nov.2023 Disponível em : <https://covid.saude.gov.br/>. Acesso em 19 nov. 2023

MIZUMOTO, K.; KAGAYA, K.; ZAREBSKI, A.; CHOWELL, G. Estimating the asymptomatic proportion of Coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, **Euro Surveill** 2020; 25.

MULLINS, E.; EVANS, D.; VINER, R. M.; O'BRIEN, P.; MORRIS, E. Coronavirus in pregnancy and delivery: rapid review [published online ahead of print, 2020 Mar 17]. **Ultrasound Obstet Gynecol**. 2020;10.1002/uog.22014. doi:10.1002/uog.22014.

NÄGELE MP, HAUBNER B, TANNER FC, RUSCHITZKA F, FLAMMER AJ. Endothelial dysfunction in COVID-19: current findings and therapeutic implications. **Atherosclerosis**. 2020;314:58-62.

NEWTON, A. H.; CARDANI, A.; BRACIALE, T. J. A resposta imune do hospedeiro na infecção por vírus respiratórios: equilibrando a depuração do vírus e a imunopatologia. **Semin Immunopathol**. 2016;38(4):471-82. 10.1007/s00281-016-0558-0.

NGUYEN, N. T.; CHINN, J.; NAHMIA, J. *et al*. Resultados E Mortalidade Entre Adultos Hospitalizados Com COVID-19 Em Centros Médicos Dos EUA. **JAMA Netw Open** 2021; 4:E210417.

NUGROHO, J. et al. Relationship of D-dimer with severity and mortality in SARS-CoV-2 patients : A meta-analysis. **Int J Lab Hematol**, v.43, n.1, p.110-115. Fev. 2021.

OGASSAWARA MY, et al. Sintomas gastrointestinais em pacientes com COVID-19: relação com a gravidade e complicações da doença. **Revista Eletrônica Acervo Científico**, 2021; 27: e7817.

OKAY, G.; DURDU, B.; AKKOYUNLU, Y.; BÖLÜKÇÜ, S.; KAÇMAZ, A. B.; SÜMBÜL, B.; *et al.* Avaliação de características clínicas e prognóstico em pacientes com hipertensão COVID-19: um estudo observacional retrospectivo unicêntrico. **Bezmialem Sci.** 2020;8 Suppl 2:15-21. 10.14235/bas.galenos.2020.4978.

ONDER, G.; REZZA, G.; BRUSAFERRO. S. Case-fatality rate and characteristics of patients dying in relation to COVID-19 in Italy. **The Journal of the American Medical Association.** 2020; 323: 1775-177.

ORAN, D. P.; TOPOL, E. J. Prevalence Of Asymptomatic SARS-Cov-2 Infection : A Narrative Review. **Ann Intern Med** 2020; 173:362.

ORAN, D. P.; TOPOL, E. J. The Proportion Of SARS-Cov-2 Infections That Are Asymptomatic: A Systematic Review. **Ann Intern Med** 2021; 174:655.

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS). Folha informativa - COVID-19 (doença causada pelo novo coronavírus). 21 Jul. 2020. Disponível em: folha 54 . Acesso em: 8 Ago. 2020

ORGANIZAÇÃO PANAMERICANA DA SAÚDE (OPAS) - COVID-19.05 Mai.2022. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2022>>. Acesso em: 8 Ago. 2023

PAHO. Pan American Health Organization 2020. Disponível em: <<https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>>. Acesso em: 15 nov. 2021.

PAHO. Pan American Health Organization. World Hypertension Day - 17 May 2021. Washington, DC: PAHO; 2021 . Available from: <https://www.paho.org/en/events/world-hypertension-day-17-may-2021>

PAN, W.; ZHANG, J.; WANG, M.; YE, J.; XU, Y.; SHEN, B.; *et al.* **Características clínicas da COVID-19 em pacientes com hipertensão essencial e os impactos dos inibidores do sistema renina-angiotensina-aldosterona no prognóstico de pacientes com COVID-19.** Hipertensão. 2020;76(3):732-41. 10.1161/HASTENÇÃOAHA.120.15289.

PERLMAN, S. Another decade, another Coronavirus. **N Engl J Med.** 2020; 382(8):760-2.

PFISTER, F.; VONBRUNN, E.; RIES, T.; JÄCK, H-M.; ÜBERLA, K.; LOCHNIT, G.; *et al.* Complement Activation in Kidneys of Patients With COVID-19. **Front Immunol.** 2021;11:594849. doi: 10.3389/fimmu.2020.594849.

QIN, C.; ZHOU, L.; HU, Z.; ZHANG, S. *et al.* Dysregulation of immune response in patients with Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. **Clinical infectious diseases.** v.71, n.15, p.762-768, 2020.

R CORE TEAM. 2022. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

R CORE TEAM. 2021. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

R CORE TEAM. 2022, versão 4.2.1. R: **A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.R-project.org/>>. Acesso em: 15 jan. 2023.

RAJALA, M. W.; SCHERER, P. E. Minireview: the adipocyte-at the crossroads of energy homeostasis, inflammation, and atherosclerosis. **Endocrinology**. 2003. 144: 3765-3773.

RASMUSSEN, S. A.; SMULIAN, J. C.; LEDNICKY, J. A.; WEN, T. S. Jamieson DG. Coronavírus Disease 2019 (COVID-19) and pregnancy: What obstetricians need to know. *Am J Obstet Gynecol*. 2020; **Journal Pre-proof**.

ROYAL COLLEGE OF OBSTETRICIANS AND GYNAECOLOGISTS. **Coronavírus (COVID-19) infection in pregnancy**: information for healthcare professionals [Internet]. Version 3. 2020 [cited 2010 Feb 03]. Disponível em: <<https://www.rcog.org.uk/globalassets/documents/guidelines/Coronavírus-covid-19-infection-in-pregnancy-v3-20-03-18.pdf>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

SAKURAI, A.; SASAKI, T.; KATO, S.; *et al.* Natural History Of Asymptomatic SARS-Cov-2 Infection. **N Engl J Med** 2020; 383:885.

SANTOS, I. A.; GROSCHE, V. R.; BERGAMINI, F. R. G.; SABINO-SILVA, R.; JARDIM, A. C. G. 2020. Antivirals Against Coronavíruses: Candidate Drugs for SARS-CoV-2 Treatment? *Front. Microbiol.* 11:1818. doi: 10.3389/fmicb.2020.01818.

SCHWARTZ, D. A. An analysis of 38 pregnant women with COVID-19, their newborn infants, and maternal-fetal transmission of SARS-CoV-2: maternal Coronavírus infections and pregnancy outcomes. **Arch Pathol Lab Med**. 2020. doi:10.5858/arpa.2020-0901-SA.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO ESTADO DE SÃO PAULO (SESA-SP). **Diretrizes e orientações para funcionamento dos serviços de saúde para enfrentamento da pandemia do COVID-19 (novo coronavírus)**. Resolução SS-28, de 17/3/2020. DOE: Nº 54 em 19/03/20, seção, p. 24.

SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE DO ESTADO DO PARANÁ (SESA-PR). Boletim-Informe Epidemiológico Coronavírus (COVID-19) pdf.13\_11\_2023. Disponível em: <https://www.saude.pr.gov.br/Pagina/Coronavirus-COVID-19> . Acesso em 19 nov.2023.

SECRETARIA MUNICIPAL DE CURITIBA (SMS). Números COVID-19/Cenário em Curitiba. Disponível em : <https://coronavirus.curitiba.pr.gov.br/painelcovid/>. Acesso em 19 nov. 2023.

SIMONNET, A.; *et al.* High prevalence of obesity in severe acute respiratory syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) requiring invasive mechanical ventilation. **Obesity**. 2020. <https://doi.org/10.1002/oby.2283>.

SNIJDER, E. J.; MEER, Y.; VAN, D. Zevenhoven-dobbe J, Onderwater JJM, Meulen J Van Der, Koerten HK, et al. Ultrastructure and Origin of Membrane Vesicles Associated with the Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Replication Complex. **J Virol** [Internet]. 2006; 80(12):5927-40. Disponível em: <<http://jvi.asm.org/>>. Acesso em: 15 nov. 2022.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes 2019-2020 (2019).

SOUTH, A. M.; TOMLINSON, T., EDMONSTON, D., HIREMATH, S., Sparks MA (2020). Controvérsias da inibição do sistema renina-angiotensina durante a pandemia de COVID-19. **Nat. Rev. Nephrol**. 16, 305-307. 10.1038/s41581-020-0279

STOKES, E. K.; ZAMBRANO, L. D.; ANDERSON, K. N.; *et al.* Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance - United States, January 22-May 30, 2020. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** 2020; 69:759.

SUN, S.; *et al.* Abnormalities of peripheral blood system in patients with COVID-19 in Wenzhou, China. **Clinica Chimica Acta**. v. 507, p. 174-180, 2020.

SUTTON, D.; FUCHS, K.; D'ALTON, M.; GOFFMAN D. Universal Screening For SARS-Cov-2 In Women Admitted for Delivery. **N Engl J Med** 2020; 382:2163.

TABATA, S.; IMAI, K.; KAWANO, S.; *et al.* Clinical Characteristics Of COVID-19 In 104 People With SARS-Cov-2 Infection On The Diamond Princess Cruise Ship: A Retrospective Analysis. **Lancet Infect Dis** 2020; 20:1043.

TADIC, M.; SAEED, S.; GRASSI, G.; TADDEI, S.; MANCIA, G.; CUSPIDI, C. Hipertensão e COVID-19: controvérsias em curso. **Front Cardiovasc Med**. 2021;8:639222. 10.3389/fcvm.2021.639222.

TEFORDE, M. W.; SELF, W. H.; GAGLANI, M.; *et al.* Effectiveness Of Mrna Vaccination In Preventing COVID-19-Associated Invasive Mechanical Ventilation And Death - United States, March 2021-January 2022. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep** 2022; 71:459.

THACHIL, J.; CUSHMAN, M.; SRIVASTAVA, A. A proposal for staging COVID-19 coagulopathy. **Res Pract Thromb Haemost**. 2020 Jul 6;4(5):731-736. doi: 10.1002/rth2.12372. PMID: 32685880; PMCID: PMC7272892.

THOMPSON, M. G.; STENEHJEM, E.; GRANNIS, S.; *et al.* Effectiveness Of Covid-19 Vaccines In Ambulatory And Inpatient Care Settings. **N Engl J Med** 2021; 385:1355.

URRECHAGA, E.; BOVEDA, O.; AGUIRRE U. Role of leucocytes cell population data in the early detection of sepsis. **J Clin Pathol.** 2018; 71: 259-266.

URRECHAGA, E.; BOVEDA, O.; AGUIRRE, U. Improvement in detecting sepsis using leukocyte cell population data (CPD). **Clin Chem Lab Med.** 2019; 57: 918-926.

URRECHAGA E. Reviewing the value of leukocytes cell population data (CPD) in the management of sepsis. **Ann Transl Med.** 2020;8:953, <http://dx.doi.org/10.21037/atm-19-3173>.

URRECHAGA E, AGUIRRE U, ESPANA~ PP, GARCÍA DE GUADIANA L. Complete blood counts and cell population data from Sysmex XN analyser in the detection of SARS-CoV-2 infection. **Clin Chem Lab Med.** 2020;59:e57-60, <http://dx.doi.org/10.1515/cclm-2020-1416>

VASILEIOU, E.; SIMPSON, C. R.; SHI, T.; *et al.* Interim Findings From First-Dose Mass COVID-19 Vaccination Roll-Out And COVID-19 Hospital Admissions In Scotland: A National Prospective Cohort Study. **Lancet** 2021; 397:1646.

VERITY, R.; OKELL, L. C.; DORIGATTI, I; WINSKILL, P.; WHITTAKER, C.; IMAI, N.; *et al.* Estimates of the severity of Coronavírus disease 2019: a model-based analysis. **Lancet Infect Dis.** 2020;20(6):669-77. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30243-7.

VERMA, A. A.; HORA, T.; JUNG, H. Y.; *et al.* Characteristics And Outcomes Of Hospital Admissions For COVID-19 And Influenza In The Toronto Area. **CMAJ** 2021; 193:E410.

VOGELS,2021 Vogels, C. B. F. et al. Analytical sensitivity and efficiency comparisons of SARS-COV-2 qRT-PCR primer-probe sets. **Nat. Microbiol.** (2020).

XIAO, K.; ZHAI, J.; FENG, Y.; ZHOU, N.; ZHANG, X.; ZOU J-J.; *et al.* Isolation of SARS-CoV-2-related Coronavírus from Malayan pangolins. **Nature.** 2020 May.

XIONG, T. Y.; HUANG, F. Y.; LIU, Q.; PENG, Y.; XU, Y. N.; WEI, J. F.; *et al.* A hipertensão é um fator de risco para desfechos adversos em pacientes com doença por coronavírus 2019: um estudo de coorte. **Ann Med.** 2020;52(7):361-6. 10.1080/07853890.2020.1802059.

XIAO, Y.; TOROK, M. E. Taking the right measures to control COVID-19. **Lancet Infect Dis** [Internet]. 2020; 20(5):523-4. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30152-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30152-3)>. Acesso em: 15 nov. 2023.

ZENG, F.; HUANG, Y.; GUO, Y.; YIN, M.; CHEN, X.; XIAO, L.; *et al.* Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. **Int J Infect Dis.** 2020;96:467-74. doi: 10.1016/j.ijid.2020.05.055.

- ZENG, L.; XIA, S.; YUAN, W.; *et al.* Neonatal early-onset infection with SARS-CoV-2 in 33 neonates born to mothers with COVID-19 in Wuhan, China. **JAMA Pediatr.** Publicado online em 26/03/2020. doi:10.1001/jamapediatrics.2020.0878.
- ZHENG, Z.; PENG, F.; XU, B.; ZHAO, J.; LIU, H.; PENG, J.; *et al.* Fatores de risco de casos críticos e mortais de COVID-19: uma revisão sistemática da literatura e meta-análise. **J Infectar.** 2020;81(2):e16-25. 10.1016/j.jinf.2020.04.021.
- ZHANG, T.; WU, Q.; ZHANG, Z. Probable Pangolin Origin of SARS-CoV-2 Associated with the COVID-19 Outbreak. **Curr Biol.** 2020 Apr; 30(7):1346-1351.e2.
- ZHONG, N. Management and prevention of SARS in China. **Philos Trans R Soc B Biol Sci.** 2004; 359(1447):1115-6.
- ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; FAN, G.; LIU, Y.; LIU, Z.; *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **Lancet** [Internet]. 2020; 395(10229):1054-62. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30566-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30566-3)>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- ZHOU, P.; YANG, X-L.; WANG, X-G.; HU, B.; ZHANG, L.; ZHANG, W.; *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new Coronavirus of probable bat origin. **Nature** [Internet]. 2020;(January). Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>>. Acesso em: 15 nov. 2023.
- ZHU, H.; WANG, L.; FANG, C.; *et al.* Clinical analysis of 10 neonates born to mothers with 2019-nCoV pneumonia. **Transl Pediatr** 2020;9(1):51-60.
- ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X.; YANG, B.; SONG, J. *et al.* A novel Coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med.** 2020; 382(8):727-33.
- WALLS, A. C.; PARK, Y-J.; TORTORICI, M. A.; WALL, A.; MCGUIRE, A. T.; VEESLER, D. Structure, function, and antigenicity of the SARS-CoV-2 spike glycoprotein. **Cell.** 2020;181(2):281-292.e6. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.058.
- WANG, C.; KANG, K.; GAO, Y.; *et al.* Cytokine Levels In The Body Fluids Of A Patient With COVID-19 And Acute Respiratory Distress Syndrome: **A Case Report. Ann Intern Med** 2020; 173:499.
- WANG, D.; HU, B.; HU, C.; *et al.* Características Clínicas De 138 Pacientes Hospitalizados Com Pneumonia Infectada Pelo Novo Coronavírus Em 2019 Em Wuhan, China. **JAMA** 2020; 323:1061.
- WANG, Q.; ZHANG, Y.; WU, L.; NIU, S.; SONG, C.; ZHANG, Z.; *et al.* 2020.a. Base estrutural e funcional da entrada do SARS-CoV-2 usando o ACE2 humano. **Cela** 181, 894-904. 10.1016/j.cell.2020.03.045.

- WANG, L.; SHI, Y.; XIAO, T.; *et al.* Chinese expert consensus on the perinatal and neonatal management for the prevention and control of the 2019 novel Coronavirus infection (First edition). **Ann Transl Med.** 2020;8(3):47-55.
- WANG, Y.; WANG, Y.; CHEN, Y.; QIN, Q. Unique epidemiological and clinical features of the emerging 2019 novel Coronavirus pneumonia (COVID-19) implicate special control measures. **J Med Virol.** 2020; 92(6):568-76.
- WILLIAMSON, E. J.; WALKER, A. J.; BHASKARAN, K.; *et al.* Fatores Associados À Morte Relacionada À COVID-19 Usando Opensafely. **Natureza** 2020; 584:430.
- WIT, E.; VAN DOREMALEN, N.; FALZARANO, D.; MUNSTER, V. J. SARS and MERS: recent insights into emerging Coronaviruses. **Nat Rev Microbiol.** 2016 Aug; 14(8):523-34.
- WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV; COVID-19). **Situation Report - 22.** February 11, 2020. Disponível em: <[https://www.who.int/docs/default-source/Coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/Coronaviruse/situation-reports/20200211-sitrep-22-ncov.pdf?sfvrsn=fb6d49b1_2)>. Acesso em: 20 nov. 2022.
- WHO. Novel Coronavirus(2019-nCoV). **Situation Report - 10.** January 30, 2020. Disponível em: <[https://www.who.int/docs/default-source/Coronaviruse/situation-reports/20200130-sitrep-10-ncov.pdf?sfvrsn=d0b2e480\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/Coronaviruse/situation-reports/20200130-sitrep-10-ncov.pdf?sfvrsn=d0b2e480_2)>. Acesso em: 02 abr. 2020.
- WHO. Laboratory testing for 2019 novel Coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. **Interim guidance.** January 17, 2020. WHO/nCoV/2020.
- WHO. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. **Interim guidance** 13 March 2020.
- WHO. Improving hypertension control in 3 million people: country experiences of programme development and implementation. Geneva (CH): World Health Organization, 2020.
- WONG, S.; LUI, R.; SUNG, J. 2020. Covid-19 and the Digestive System. **Journal of Gastroenterology and Hepatology.** 35. 10.1111/jgh.15047.
- WU, D.; WU, T.; LIU, Q.; YANG, Z. The SARS-CoV-2 outbreak: What we know. **Int J Infect Dis.** 2020; 94:44- 8.
- WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and important lessons from the Coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **The Journal of the American Medical Association.** 2020; 323: 1239-1242.
- WUHAN NOVEL CORONAVÍRUS (2019-NCOV) MORTALITY RATE. **National Health Commission (NHC) of China.** Disponível em: <<https://www.worldometers.info/Coronaviruse/Coronaviruse-death-rate>>. Acesso em: 03 abr. 2019.

YANG, J. K.; LIN, S. S.; JI, X. J.; GUO, L. M. Binding of SARS Coronavírus to its receptor damages islets and causes acute diabetes. **Acta Diabetol.** 2010; 47: 193- 199.

YANG Q, ZHOU Y, WANG X, GAO S, XIAO Y, ZHANG W, et al. Effect of hypertension on outcomes of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a propensity score-matching analysis. *Respir Res.* 2020;21:172. 10.1186/s12931-020-01435-8

YANG X, JIN Y, LI R, ZHANG Z, et al. Prevalence and impact of acute renal impairment on COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care.* 2020 Jun 18; 24(1): 356

YANG X.; YANG Q.; WANG Y.; WU Y.; XU J.; YU Y. et al. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. *Journal of thrombosis and haemostasis* : JTH, v. 18, n. 6, p. 1469-1472, jun. 2020

YAO Q, NI J, HU TT, CAI ZL, ZHAO JH, XIE QW, et al. Clinical characteristics and outcomes in coronavirus disease 2019 (COVID-19) patients with and without hypertension: a retrospective study. *Rev Cardiovasc Med.* 2020;21(4):615-25. 10.31083/j.rcm.2020.04.113

YIN, Y.; WUNDERINK, R. G. MERS, SARS and other Coronavíruses as causes of pneumonia. **Respirology.** 2018; 23(2):130-7. [40].

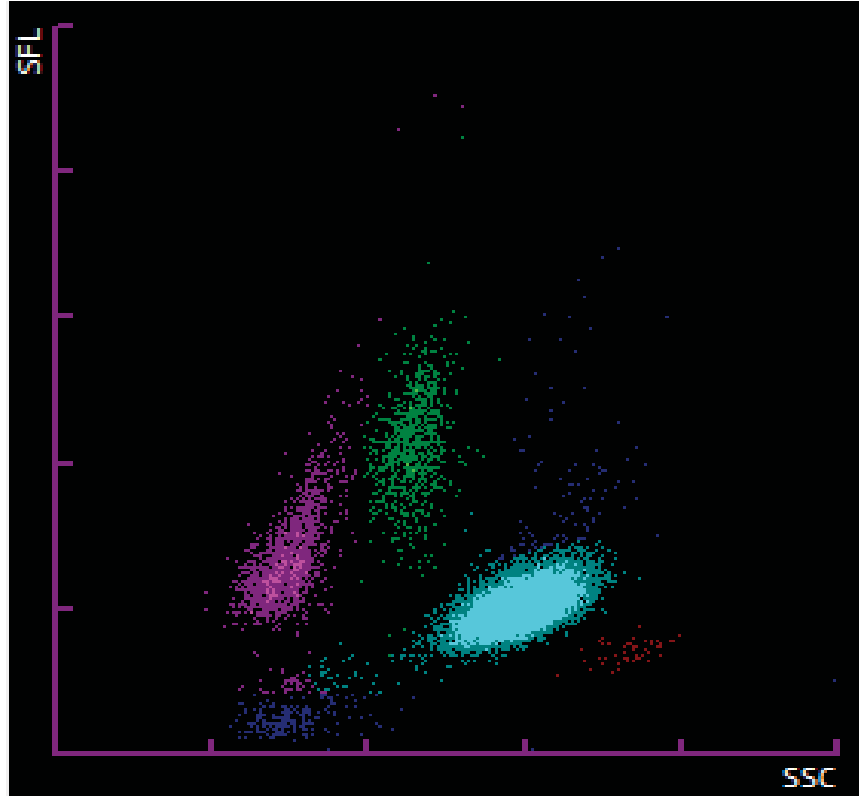
YOUNDEN, W. J. **Cancer.** Vol. 3. 1950. Index for rating diagnostic tests; pp. 32-35.

YUGAR-TOLEDO, J. C.; YUGAR, L. B. T.; TÁCITO, L. H. B.; VILELA-MARTIN, J. F. Disfunção endotelial e hipertensão arterial. **Rev Bras Hipertens.** 2015 ;22(3):84-92. Disponível em: <<https://pesquisa.bvsalud.org/porta1/resource/pt/biblio-881232>>. Acesso em: 15 nov. 2023.

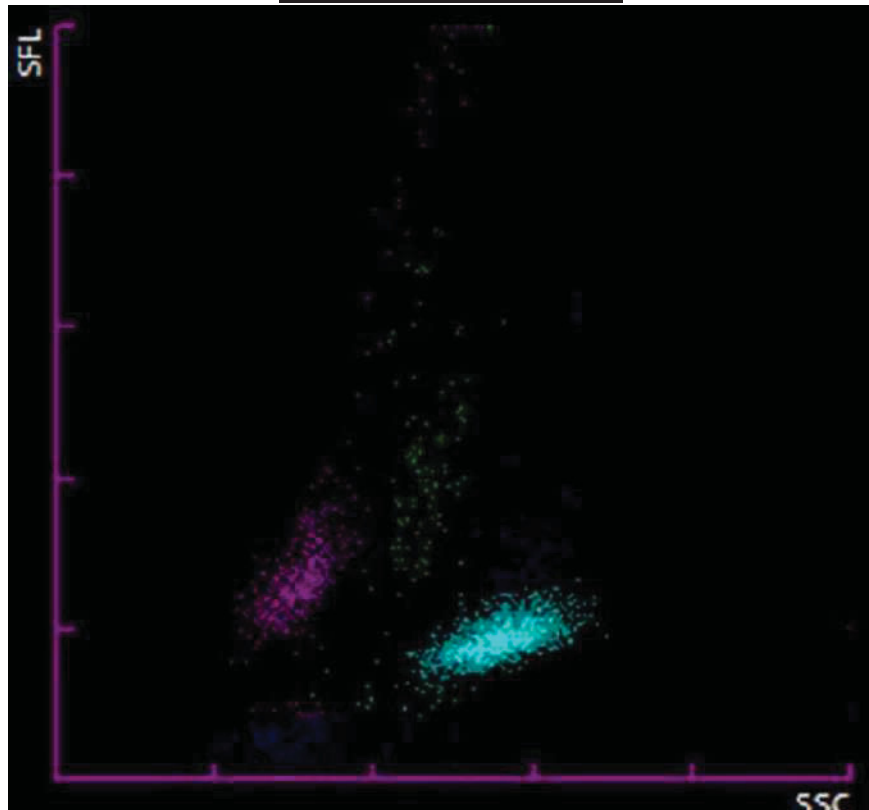
ANEXOS

Imagens do diferencial de leucócitos e dispersão celular na citometria de fluxo do XN-3100 em pacientes com COVID-19

COVID-19 GRAVE



COVID-19 MODERADA





Continuação do Parecer: 4.284.474

## DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação de parâmetros clínicos e laboratoriais no diagnóstico da covid-19 utilizando diferentes tipos de amostras clínicas

**Pesquisador:** Meri Bordignon Nogueira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 36697020.7.0000.0096

**Instituição Proponente:** Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

## DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 4.284.474

### Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma resposta a pendências do parecer nº 4.241.108 de 27 de agosto de 2020

O estudo é sobre o vírus SARS-COV-2, pesquisando dados de pelo menos 200 amostras de pacientes maiores de 18 anos de ambos os sexos, atendidos na Unidade Referenciada e internados nas enfermarias respiratórias com suspeita de COVID-19.

Os pesquisadores propõem um método de coleta que reduza custos no diagnóstico e o risco de infecção para profissionais de saúde do CHC para implementação na rotina laboratorial.

Na primeira versão solicitavam dispensa de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, mas nesta resposta a pendência apresentam TCLE adequado.

### Objetivo da Pesquisa:

Sem relatos de modificações em relação ao projeto original

### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Sem relatos de modificações em relação ao projeto original

### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Resposta a pendências adequada

### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos presentes

Página 01 de 04

**Endereço:** Rua Gal. Carneiro, 181

**Bairro:** Alto da Glória

**CEP:** 80.060-900

**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-1041

**Fax:** (41)3360-1041

**E-mail:** cep@hc.ufpr.br



Continuação do Parecer: 4.284.474

### **Recomendações:**

Atenção para o fato de ter dois TCLEs na lista de documentos: o que foi postado em 17.08.20, que está errado, pois é de outro projeto, e o que foi postado em 02.09.20, que é o corrigido.

É obrigatório trazer ao CEP/HC uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido que foi aprovado, para assinatura e rubrica, o mesmo deve estar em formatação adequada e com as caixas de rubricas no rodapé das páginas que não contenham assinatura. Após, fazer cópia fiel do TCLE aprovado e rubricado em duas vias: uma ficará com o pesquisador e outra com o participante da pesquisa.

### **Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

As pendências do parecer nº 4.241.108 eram:

1- Apresentar TCLE.

Embora os pesquisadores tenham colocado uma justificativa para a dispensa do TCLE esta não está coerente com o projeto apresentado. Os próprios autores descrevem, corretamente, a necessidade da aplicação do TCLE, conforme descrito em Materiais e Métodos do projeto, no item Tipo de Amostra. Salientamos que neste termo deverá ser esclarecida a coleta adicional de material (saliva e lavado de garganta) e o tempo para aplicação do questionário.

RESPOSTA: ITEM ATENDIDO, embora não tenha sido incluído o tempo para aplicação do questionário. Avaliando o questionário, que foi submetido agora, consideramos que não é extenso, portanto o TCLE pode ficar sem esta informação.

2- Apresentar modelo do questionário que será aplicado aos participantes de pesquisa

RESPOSTA: ITEM ATENDIDO

### **Considerações Finais a critério do CEP:**

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do HC-UFPR, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS 466/2012 e na Norma Operacional Nº 001/2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto, conforme proposto, para início da Pesquisa. Solicitamos que sejam apresentados a este CEP relatórios semestrais sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos. Os documentos da pesquisa devem ser mantidos arquivados.

É dever do CEP acompanhar o desenvolvimento dos projetos por meio de relatórios semestrais dos pesquisadores e de outras estratégias de monitoramento, de acordo com o risco inerente à pesquisa.



Continuação do Parecer: 4.284.474

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO PROJETO_1614221.pdf	02/09/2020 15:25:53		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CORRIGIDO_02_09.docx	02/09/2020 15:24:55	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
Outros	CARTA_DE_ENCAMINHAMENTO_CEP_PENDENCIAS.pdf	02/09/2020 15:24:09	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
Outros	CARTA_DE_ENCAMINHAMENTO_CEP_PENDENCIAS.doc	02/09/2020 15:23:28	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
Outros	QUESTIONARIO_COMPLEMENTAR.pdf	02/09/2020 15:21:56	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
Outros	QUESTIONARIO_COMPLEMENTAR.do cx	02/09/2020 15:21:04	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_CORRIGIDO_02_09.pdf	02/09/2020 15:17:07	Meri Bordignon Nogueira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_SARS_CoV.pdf	18/08/2020 10:37:21	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_SARS_CoV.docx	18/08/2020 10:37:14	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Solicitacao_de_dispensa_do_TCLE.pdf	18/08/2020 10:32:41	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Declaracao_de_orientacao.pdf	18/08/2020 10:24:20	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Ausencia_de_custos.pdf	18/08/2020 10:23:18	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável	Carta_encaminhamento.pdf	18/08/2020 10:23:02	Lucas Bochnia Bueno	Aceito

Página 03 de 04

**Endereço:** Rua Gal. Carneiro, 181

**Bairro:** Alto da Glória

**CEP:** 80.060-900

**UF:** PR

**Município:** CURITIBA

**Telefone:** (41)3360-1041

**Fax:** (41)3360-1041

**E-mail:** cep@hc.ufpr.br



HOSPITAL DE CLÍNICAS DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO  
PARANÁ - HCUFPR



Continuação do Parecer: 4.284.474

Declaração de Pesquisadores	Declaracao_de_compromisso.pdf	18/08/2020 10:22:33	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Concordancia_UR.pdf	18/08/2020 10:22:14	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Concordancia_ULAC.pdf	18/08/2020 10:21:57	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Concordancia_LIGH.pdf	18/08/2020 10:21:42	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Outros	Concordancia_LABCHO.pdf	18/08/2020 10:21:29	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Declaração de concordância	Concordancia_Infectologia.pdf	18/08/2020 10:20:45	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	18/08/2020 10:20:25	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	17/08/2020 16:27:42	Lucas Bochnia Bueno	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	17/08/2020 16:27:30	Lucas Bochnia Bueno	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

CURITIBA, 17 de Setembro de  
2020

---

**Assinado por: Maria Cristina Sartor**  
**(Coordenador(a))**

**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**