



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

GEORON FERREIRA DE SOUSA

**INVESTIGAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
CLÍNICA DE PACIENTES COM COVID-19 INTERNADOS NA ENFERMARIA
E UTI DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO EM PERNAMBUCO**

RECIFE
2022

GEORON FERREIRA DE SOUSA

**INVESTIGAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
CLÍNICA DE PACIENTES COM COVID-19 INTERNADOS NA ENFERMARIA
E UTI DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO EM PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Sistemas Biológicos.

Orientador: Profa. Dra. Cristiane Moutinho Lagos de Melo.

RECIFE
2022

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Sousa, Georon Ferreira de

Investigação hematológica, bioquímica, microbiológica e clínica de pacientes com COVID-19 internados na enfermaria e UTI de um hospital universitário em Pernambuco/ Georon Ferreira de Sousa– 2022.

107 f. : il., fig., tab.

Orientadora: Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Recife, 2022.

Inclui referências e anexos.

1. COVID-19 (doença) 2. Imunologia 3. Inflamação I. Melo, Cristiane Moutinho Lagos de (orient.) II. Título

616.91

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2023 -027

GEORON FERREIRA DE SOUSA

**INVESTIGAÇÃO HEMATOLÓGICA, BIOQUÍMICA, MICROBIOLÓGICA E
CLÍNICA DE PACIENTES COM COVID-19 INTERNADOS NA ENFERMARIA
E UTI DE UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO EM PERNAMBUCO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 28 / 02 / 2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Cristiane Moutinho Lagos de Melo (Presidente)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. José Luiz de Lima Filho (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Marcus André Cavalcanti Bezerra (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^a. Dr^a. Márcia Vanusa da Silva (Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Dr. Anna Jéssica Duarte Silva (Suplente)
Universidade Federal de Pernambuco

Dedico este estudo a todos aqueles que tiveram suas vidas ceifadas pela COVID-19, especialmente àqueles cuja morte foi-lhes direcionada, discriminadamente, pelo Estado brasileiro.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família, em especial aos meus pais, **Dona Lana** e **Sr. Geo**, e minhas irmãs **Evely** e **Kalline**. Obrigado por todo amor, carinho, compreensão, apoio, sustento, conselhos, todo esforço para me proporcionar a melhor vida possível. Eu sou muito grato do fundo do coração por tudo.

Agradeço imensamente a minha Orientadora **Prof^a. Dr^a. Cristiane Moutinho Lagos de Melo**. Obrigada por todo investimento, orientação, ensinamentos, apoio e disponibilidade. Obrigada pelos conselhos, por sempre buscar melhorar meu desempenho acadêmico/científico, por sempre torcer pela minha vitória e querer sempre o melhor. Sou extremamente grato e feliz em ter você como orientadora e amiga, de coração, muito obrigado.

Ao Laboratório de Análises Imunológicas e Antitumorais (LAIA), até difícil falar uma jornada que começou em 2018 e dura até hoje. No laboratório obtive amizades incríveis, como **Bárbara Barros** que bastante me ensino e me motivou, me proporcionou várias conversas e inúmeros risos, tenho muito orgulho de você amiga. **Guilherme Antônio**, conheço desde o LGPP, uma amizade que surgiu por causa de Fabiana, e proporcionar as melhores os melhores rolês, te amo amigo e obrigado por toda ajuda, na vida e nesse trabalho. **Rodrigo Abreu**, muito obrigado por fazer parte desse trabalho e pelo dia a dia, risadas e conversas. **Leonardo Oliveira**, a todas as risadas, conversas, muito obrigado por isso tudo e pela ajuda nesse trabalho. **Marília Cabral**, a todas as conversas e risadas, por toda ajuda nesse trabalho e principalmente por ser tão carinhosa e atenciosa.

Agradeço, em especialíssimo, a minha amiga **Maria Gomes**, uma das pessoas mais incríveis que conheci no curso e na vida, gostaria que soubesse que sou extremamente grato e feliz por ter sua amizade, principalmente por estar sempre presente nos meus dias, amo você.

Agradeço às minhas amigas, **Scarlet Barros**, **Geyse Lima**, **Hugo Rodrigo** e **Wellington Santos**. Obrigado pelo companheirismo, suporte, paciência, e por estarem presentes mesmo nos momentos mais difíceis. Obrigado pelo apoio em todo curso, nos trabalhos e na vida. Obrigado pelas distrações, crises de risos, e até choros e *bads*

compartilhados. Vocês, sem dúvida, são um dos presentes mais lindos que a vida/UFPE me proporcionou, amo vocês.

Agradeço ao Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE) por todo ensinamento, muitos dias de risadas e pelo acolhimento em todas as colaborações. Em especial **Anna Jéssica, Bianca São Marcos e Daffany Luana**. E ao líder do Laboratório, o Professor **Antonio Carlos**

Agradeço a equipe do Hospital das Clínicas-UFPE em especial a professora **Arione Vieira**. E agradeço ao professor **Evônio Campelo** e seus residentes, pelos ensinamentos. Agradeço a **Amanda Mota** e **Bruno Melo** do Instituto de Ciências Biológicas da UPE por todo auxílio para execução desse trabalho, muito obrigado. Muito obrigado pela ajuda nesse trabalho, vocês também fazem parte disso.

Agradeço aos professores Prof. Dr. **Marcus André Cavalcanti Bezerra**, Prof. Dr. **José Luiz de Lima Filho**, Prof^a. Dr^a. **Márcia Vanusa da Silva** e Dr. **Anna Jéssica Duarte Silva**, minha admiração por vocês fizeram com que estivessem em minha banca de mestrado e muito obrigado por aceitar esse convite e contribuir para esse trabalho.

*"Diga o quanto você ama a quem você ama.
Mas não fica só na declaração, gente. Ame
na prática, na ação. Amar é ação. Amar é
arte. Muito amor, gente. Até logo!"*

Paulo Gustavo - em especial de fim de ano
do programa 220 Volts

RESUMO

A pandemia da COVID-19 há dois anos tem causado muitos transtornos mundiais em termos de saúde pública, economia e política. O número de casos e óbitos tem aumentado em oscilações denominadas ondas e mesmo após o processo de vacinação ter iniciado, ainda não existe um medicamento direcionado ao combate ao vírus. Este estudo visa fornecer mais conhecimento a respeito da patogênese da COVID-19, nos aspectos laboratoriais e clínicos, confrontando a evolução da doença em pacientes de Enfermaria e de UTI. Amostras biológicas de 85 pacientes foram coletadas para investigação hematológica, bioquímica, imunológica, microbiológica e clínica. Os resultados demonstraram que os principais sintomas apresentados pelos pacientes de Enfermaria e UTI foram dispneia (74,41% e 45,45%) e febre (55,17% e 27,27%). As principais comorbidades observadas foram hipertensão (34,48% e 70%) e obesidade (17,24 e 20%) dados para Enfermaria e UTI, respectivamente. Os exames de Tomografia computadorizada demonstraram a prevalência dos achados clássicos como as opacidades em vidro fosco. Além disso, os pacientes de UTI apresentaram os graus moderado e grave da doença como os mais prevalentes. Os principais fármacos utilizados na Enfermaria foram os anti-inflamatórios, antibióticos e anticoagulantes. Para a UTI, além dos descritos acima, destacaram-se os antirretrovirais e os ansiolíticos. Nos pacientes de UTI houve redução de hemácias, de hematócrito e de linfócitos (inclusive todas as sublinhagens T (CD3, CD4, CD8 e CD19), associada com aumento de neutrófilos, DHL, ferritina, DDímero, fibrinogênio e Proteína C reativa (PCR). Os microrganismos mais prevalentes foram *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. Os antibióticos Ampicilina-Sulbactam, Estreptomicina, Eritromicina, Oxaciclina, Rifampicina, Ceftriaxoma, Imipenem e Meropenem foram os menos responsivos nos testes de resistência antimicrobiana. Exames laboratoriais na COVID19, são importantes ferramentas no diagnóstico da condição clínica do paciente. A interrelação entre dados hematológicos, bioquímicos e imunológicos, pode ser um fator preditivo da conduta médica e permanência do paciente na enfermaria ou UTI. Além disso, o longo tempo de internamento na UTI associado ao uso de dispositivos invasivos, também são fatores predisponentes para o favorecimento das coinfeções nosocomiais. Por fim, investigar e controlar as condições pré-clínicas, ou seja, possíveis comorbidades, parece ser essencial na prevenção do agravamento da doença.

Palavras-chave: SARS-CoV-2; IMUNOFENOTIPAGEM; INFLAMAÇÃO.

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic two years ago has caused a lot of global upheaval in terms of public health, economics, and politics. The number of cases and deaths has increased in oscillations called waves and even after the vaccination process has started, there is still no medicine aimed at fighting the virus. This study aims to provide more knowledge about the pathogenesis of COVID-19, in laboratory and clinical aspects, confronting the evolution of the disease in Ward and ICU patients. Biological samples from 85 patients were collected for hematological, biochemical, immunological, microbiological, and clinical investigation. Results showed that the main symptoms presented by the Ward and ICU patients were dyspnea (74.41% and 45.45%) and fever (55.17% and 27.27%). The main comorbidities observed were hypertension (34.48% and 70%) and obesity (17.24 and 20%) given for the Ward and ICU, respectively. Computed tomography exams demonstrated the prevalence of classic findings such as ground-glass opacities. In addition, ICU patients had moderate and severe disease as the most prevalent. The main drugs used in the ward were anti-inflammatories, antibiotics, and anticoagulants. For the ICU, in addition to those described above, antiretrovirals and anxiolytics were highlighted. In ICU patients, there was a reduction in red blood cells, hematocrit, and lymphocytes (including all T subsets (CD3, CD4, CD8, and CD19), associated with an increase in neutrophils, LDH, ferritin, Dimer-D, fibrinogen, and C-reactive protein (PCR). The most prevalent microorganisms were *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Klebsiella pneumoniae*. The antibiotics Ampicillin-Sulbactam, Streptomycin, Erythromycin, Oxacycline, Rifampicin, Ceftriaxone, Imipenem and Meropenem were the least responsive in antimicrobial resistance tests. Laboratory tests in COVID-19 are important tools in the diagnosis of the patient's clinical condition. The interrelationship between hematological, biochemical and immunological data can be a predictive factor of medical management and patient stay in the ward or ICU. In addition, the long hospital stay of patients in the ICU associated with the use of invasive devices are also predisposing factors for the favoring of nosocomial coinfections. Finally, investigating and controlling pre-clinical conditions, that is, possible comorbidities, seems to be essential in preventing the disease from worsening.

Keywords: SARS-CoV-2; IMMUNOPHENOTYPING; INFLAMMATION.

LISTA DE FIGURAS

- Mecanismo de infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais e macrófagos. 1) A fixação do vírus na célula-alvo se dá por meio das proteínas ECA2 e TMPRSS2. 2) O mecanismo de endocitose é ativado e o vírus é introduzido na célula também ativando as vias imunológicas. Dessa forma, as citocinas inflamatórias são produzidas pela ativação do gene inflamatório e uma tempestade de citocinas pode ser desencadeada. 3) Vírus inicia sua fase de replicação. 4) Através das fases de transcrição e tradução, as proteínas do vírus e o RNA são construídos em compartimentos RE e Golgi. 5) A fase final é caracterizada pela saída do SARS-CoV-2 para infectar outra célula-alvo. Fonte: Adaptado, SILVA et al., 2021.
- Figura 1 -** - 21
- A tomografias computadorizada de tórax axial. **A-B** – TC de tórax mostra opacidade do espaço aéreo em vidro fosco (setas pretas), com predomínio nas regiões periféricas. **C-D** – TC de tórax axial mostra opacidade do espaço aéreo em vidro fosco periférico bilateral consolidativo bilateral (setas brancas), multifocal bilateral adjacente à pleura (setas pretas), incluindo as fissuras pulmonares (seta pretas), com predomínio nas regiões periféricas. Nódulos pulmonares bem circunscritos são identificados em ambos os pulmões (seta branca).
- Figura 2 -** - 29
- Representação geográfica dos municípios de moradia dos pacientes diagnosticados com COVID-19 e internados no HC-UFPE
- Figura 3 -** - 36

Tomografias computadorizada de tórax axial em pacientes com COVID-19. **A** - Observam-se múltiplos focos de opacidades periféricas em vidro fosco, além de espessamento de septos intralobulares (seta branca). Nota-se também presença de tubo orotraqueal (seta preta), indicando a gravidade da doença. **B** - Opacidade consolidativa em segmento superior do lobo inferior direito (seta branca). Há também vidro fosco confluyente (seta preta), tendendo a formar consolidação.

Figura 4 - - 39

Eritograma dos pacientes diagnosticados com COVID-19 e internados no HC-UFPE. Valores superiores foram encontrados na contagem de hemácias e hematócrito para pacientes que necessitaram de terapia intensiva (UTI). Os valores de p estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.

Figura 5 - - 41

Leucograma de pacientes diagnosticados com COVID-19 internados na Enfermaria e UTI do HC-UFPE. Valores superiores na contagem de neutrófilos e inferiores na contagem de linfócitos foram encontrados. Os valores de p estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.

Figura 6 - - 42

Perfil de citocinas produzidas no soro de pacientes com COVID-19 internados na Enfermaria e UTI do HC-UFPE. Valores superiores foram encontrados nas citocinas IL-2 e IL-17 para pacientes com necessidade de terapia intensiva (UTI). Os valores de p estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.

Figura 7 - - 44

Imunofenotipagem de linfócitos de pacientes com COVID-19. A média de cada gate (região) foi plotada como valores percentuais. Os valores do valor p estão destacados no gráfico. Valores representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.

Figura 8 - - **44**

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Parâmetros de ocorrência clínica nos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 36
Tabela 2 -	Principais comorbidades observadas nos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 37
Tabela 3 -	Consolidação dos achados de Tomografia Computadorizada dos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 38
Tabela 4 -	Distribuição dos fármacos utilizados em pacientes de COVID-19 de Enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 39
Tabela 5 -	Marcadores bioquímicos encontrados em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 42
Tabela 6 -	Locais de coleta de amostras para investigação microbiológica em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 45
Tabela 7 -	Isolados microbiológicos por área de coleta em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE	- 46
Tabela 8 -	Perfil de resistência e sensibilidade aos antimicrobianos testada em amostras de hemocultura, Urocultura e Secreção Traqueal positivos de pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE.	- 47

Tabela 9 -	Perfil de resistência aos antimicrobianos testados em amostras de SWAB reta e nasal positivas de pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE.	- 49
-------------------	--	------

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	17
2.	OBJETIVOS	19
2.1	OBJETIVO GERAL	19
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3.	REFENRENCIAL TEÓRICO	19
3.1	O VÍRUS SARS-COV-2 E SUAS INTERAÇÕES CELULARES	19
3.2	RESPOSTA IMUNOLÓGICA PROMOVIDA PELO SARS-CoV-2	23
3.3	IMUNOPATOLOGIA DA COVID-19	26
3.4	ACHADOS DE IMAGEM DA COVID-19 E SUAS IMPLICAÇÕES CLÍNICAS	27
3.5	ACHADOS LABORATÓRIAS DA COVID-19	29
3.5.1	<i>Investigação hematológica e bioquímica</i>	29
3.5.2	<i>Análises microbiológicas</i>	30
4.	METODOLOGIA	32
4.1	LOCAL DO ESTUDO, LABORATÓRIOS ENVOLVIDOS E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	32
4.2	PACIENTES E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	32
4.3	COLETA DE SANGUE E PROCESSAMENTO AMOSTRAL	32
4.3.1	<i>Obtenção de sangue e processamento hematológico</i>	33
4.3.2	<i>Obtenção de soro e processamento bioquímico</i>	33
4.3.3	<i>Dosagem de citocinas plasmáticas</i>	33
4.3.4	<i>Isolamento de PBMC e imunofenotipagem</i>	34
4.4	INVESTIGAÇÃO MICROBIOLÓGICA	34
4.5	INVESTIGAÇÃO CLÍNICA	35
4.6	ANÁLISE ESTATÍSTICA	35
5.	RESULTADOS	35
6.	DISCUSSÃO	49
7.	CONCLUSÃO	53
	REFERENCIAS	54
	ANEXO A - PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA	65
	ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO	71

ANEXO C - PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO (COVID-19)	72
ANEXO D - PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - ARTIGO ORIGINAL ACEITO PARA PUBLICAÇÃO (COVID-19)	73
ANEXO E - PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - CAPÍTULO DE LIVRO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO (COVID-19)	74
ANEXO F – PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO	75
ANEXO G - PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO	76
ANEXO H - PRODUCÇÕES DESENVOLVIDA DURANTE O MESTRADO - ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO	77
ANEXO 1 - ARTIGO DA DISSERTAÇÃO	78

1. INTRODUÇÃO

Após dois anos, a doença do coronavírus 19 (COVID-19), descoberta e promovida ao caráter de pandemia em meados de dezembro do ano de 2019, tem acarretado milhares de casos e mortes em todo o mundo (RAHMAN et al., 2021). Segundo os dados mais recentes, fornecido pelo Painel COVID-19 do Center for Systems and Engineers (CSSE) da Universidade Johns Hopkins (JHU), o agente etiológico, vírus SARS-CoV-2, provocou mais de 422.442.561 casos mundiais, além de mais de 5.877.865 óbitos (JHU, 2022). Contudo, os dados apresentados, embora elevados, compreendem apenas 5% da letalidade da doença, uma vez que, um indivíduo infectado pode apresentar perfis heterogêneos de sintomas, variando da ausência total (assintomático) à necessidade de cuidados intensivos, podendo ainda, ir ou não a óbito. Além disso, características como idade e/ou presença de comorbidades acrescida da carência de uma terapia medicamentosa direcionada ao vírus, são outros fatores que dificultam o manejo da doença (SHARMA et al., 2021a; MELO et al., 2020).

A transmissão do SARS-CoV-2 acontece por meio de gotículas e finos aerossóis em suspensão no ar (SHARMA et al., 2021b). Ao entrar em contato com as vias respiratórias, o vírus se instala nas células dos tratos respiratórios superior e inferior do hospedeiro fazendo uso da interação entre a proteína S (Spike) viral e dois receptores celulares: ECA2 (Enzima conversora de angiotensina 2) e TMPRSS2 (Transmembrana serina protease) (SRIDHAR et al., 2021). Nesse contexto, sabe-se que o sistema respiratório é o principal alvo do vírus e que o fenômeno de tropismo se deve, principalmente, à elevada expressão das proteínas de interação nesse sistema. No entanto, também é sabido que o SARS-CoV-2 pode parasitar os mais diversos órgãos como rins; pâncreas; intestino delgado; coração; e cérebro gerando, igualmente, danos e potenciais complicações ao quadro clínico dos pacientes (BEYERSTEDT et al., 2021).

Mediante à exposição do RNA viral às células hospedeiras, o sistema imunológico é ativado através da expressão inicial de citocinas de ação quimiotática para novas células imunológicas (CAVALCANTE-SILVA et al., 2021). Além disso, o reconhecimento do genoma viral ativa, também, receptores de membrana referentes à imunidade inata, suscitando cascatas de transdução de sinal que culminam na produção de citocinas pró-inflamatórias, dando destaque à IL-6. Ademais, concomitantemente aos eventos descritos, a imunidade humoral – seguida do processo de apresentação de antígeno –

também é ativada, elicitando o recrutamento e ativação de linfócitos T e B, além da secreção de interleucinas pró-inflamatórias e fatores de crescimento e diferenciação celular (TIAN et al., 2021). Todos esses processos visam a eliminação do patógeno do ambiente afetado, porém, salienta-se que o recrutamento de excessivas células imunológicas ao local da infecção pode gerar, dentre outras coisas, o início de um microambiente hiperinflamado que é capaz de gerar danos teciduais, anergia celular e quedas transitórias no número de células circulantes. (GUSTINE et al., 2021; LOTFINEJAD et al., 2020).

Quanto aos sintomas e características clínicas conhecidas, destacam-se nos pacientes que desenvolvem a sintomatologia leve/moderada da COVID-19 a febre; tosse; fadiga; dispneia; e dor de cabeça. Já em relação àqueles que progridem para o agravamento da doença, os danos pulmonares de origem hiperinflamatória podem levar à síndrome respiratória aguda grave (SRAG), caracterizada por demasiado comprometimento da ventilação aérea, fazendo-se necessária, portanto, a ventilação mecânica. Nessa condição, observa-se, na histopatologia dos tecidos pulmonares, indícios de hemorragias, bem como a formação de edema e de lesões alveolares difusas (BATAH et al., 2021). Diante desses danos, evidencia-se, em tomografia computadorizada, consolidações periféricas e subpleurais – opacidade em vidro fosco – que são de grande utilidade para o diagnóstico da doença e sua evolução, embora estas ainda sejam inespecíficas (PONTONE et al., 2021). Os achados clínicos importantes em pacientes com COVID-19 (hemograma e bioquímico) estão voltados, sobretudo, a achados de linfopenia, dano hepático (elevação de TGO e TGP), cuja origem ainda não é bem definida, e elevação de marcadores inflamatórios (PCR; D-dímero; fibrinogênio; e LDH) (HARIYANTO et al., 2021; RAHI et al., 2021). Uma outra preocupação emergente no contexto da COVID-19 é o uso indiscriminado de antibióticos, pois além dos danos conhecidos à fisiologia dos pacientes, ressalta-se, também, o surgimento de microrganismos altamente resistentes que se relacionam diretamente com o mau prognóstico da doença (MUSUZA et al., 2021).

Vários estudos demonstram a associação das alterações hematológicas, marcadores inflamatórios e coinfeções com a patogênese da COVID-19. Embora os dados sobre os fatores de risco que contribuem para a patogênese da COVID-19 ainda sejam limitados, esse estudo teve como objetivo investigar os parâmetros clínicos, laboratoriais, imunológicos, microbiológicos e de comorbidade em pacientes com COVID-19 hospitalizados. Esses dados podem desempenhar um papel crucial na identificação da correlação dos biomarcadores com a gravidade e mortalidade da doença.

Além disso, a interrelação entre esses diferentes parâmetros pode auxiliar no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes com COVID-19.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o perfil hematológico de pacientes diagnosticados com COVID-19 e internados no Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Traçar um perfil populacional e geográfico dos pacientes envolvidos no estudo;

2.2.2 Investigar as principais alterações bioquímicas e hematológicas presentes nos sangues desses pacientes;

2.2.3 Estudar os aspectos imunológicos celulares e humorais entre os pacientes de enfermaria e UTI e suas respectivas comorbidades;

2.2.4 Estabelecer o perfil de contaminação microbiológica mais prevalente, além de aspectos de resistência microbiana, entre os pacientes de enfermaria e UTI;

2.2.5 Correlacionar os aspectos inflamatórios e imunológicos com as comorbidades dos pacientes no agravo da COVID-19.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 O VÍRUS SARS-COV-2 E SUAS INTERAÇÕES CELULARES

O novo coronavírus, SARS-CoV-2, causa da Síndrome Respiratória Aguda Grave, faz parte da família Coronaviridae, que é a mesma família do SARS-CoV e MERS-CoV, dois outros coronavírus que causaram doenças respiratórias de origem zoonótica no passado. Todos os vírus pertencentes a esta família codificam uma glicoproteína de pico (*spike*) que está ligada à superfície viral e é responsável pela interação com o hospedeiro (SIDDELL et al., 1983; HU et al., 2020; LETKO et al., 2020).

O SARS-CoV-2 é um vírus de material genético de RNA de sentido positivo (+)ssRNA que varia de 26 a 32 kb. Quando o (+)ssRNA é inserido na célula, ele já é capaz de ser traduzido nas primeiras proteínas virais. As principais proteínas estruturais codificadas no genoma são a proteína N que integra o nucleocapsídeo viral, as proteínas

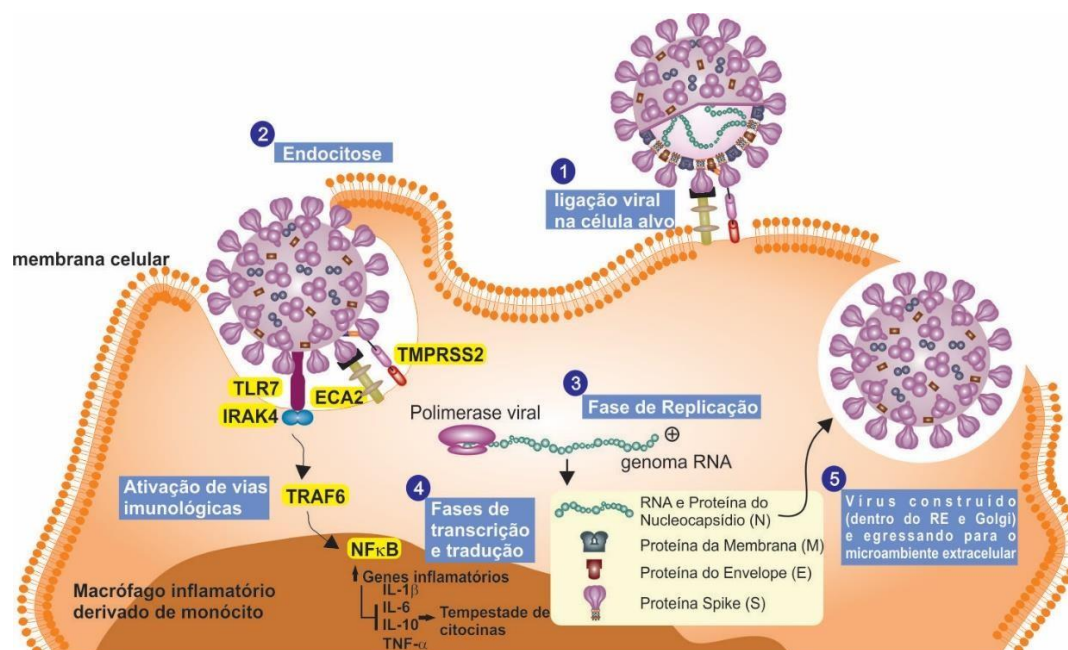
de membrana e envelope M e E - incorporadas na membrana viral, e a proteína S, responsável pela produção do pico (LI et al., 2020a) Dentre as proteínas citadas, a mais importante é a proteína *spike* (S), que se divide em dois domínios principais, S1 e S2 (PERROTTA et al., 2020).

Os sintomas iniciais do COVID-19 mostram que o SARS-CoV-2 afeta as vias aéreas e, assim que o vírus se espalha por multiplicação nas células hospedeiras, seus vírions são suspensos em gotículas ou aerossóis finos (MEYEROWITZ et al., 2021). Nesse contexto, confirmamos que a transmissão direta por gotículas é reforçada pela replicação do SARS-CoV-2, tanto no trato respiratório superior quanto no inferior (HARRISON et al., 2020; MEYEROWITZ et al., 2021).

A entrada do SARS-CoV-2 nas células hospedeiras humanas ocorre basicamente por meio da interação da proteína viral S com dois receptores celulares, ACE2 e TMPRSS2 (Figura 1). A ECA2 (Enzima Conversora da Angiotensina II) é a proteína transmembrana responsável pela conversão da angiotensina II em angiotensina 1-7, que é uma contra-reguladora dos efeitos da angiotensina II na regulação da pressão arterial no sistema renina-angiotensina-aldosterona. Por outro lado, TMPRSS2 (*Transmembrane Protease Serine II*) é uma proteína transmembrana com domínio proteolítico que está envolvida em vários processos fisiológicos e patológicos, incluindo a infecção pelo SARS-CoV (HOFFMANN et al., 2020). Quando se trata de betacoronavírus, a região específica da proteína *spike* que interage com os receptores celulares é chamada de Domínio de Ligação ao Receptor (*Receptor Binding Domain* - RBD), que está localizado na subunidade S1. Porém, além da interação ECA2-RBD, o processamento da proteína *spike* é essencial, sendo realizado pelo domínio protease do co-receptor TMPRSS2 por meio da clivagem proteolítica de seu sítio de hemaglutinina. Uma vez que é necessário que o vírus entre na célula, ele serve como uma barreira de entrada e é concebido como uma barreira de transmissão espécie-espécie (LETKO et al., 2020). Feito este processo, o vírus é efetivamente capaz de fundir a membrana do envelope com a membrana celular, promovendo assim a internalização de seu material genético (LETKO et al., 2020; HOFFMANN et al., 2020).

Figura 1. Mecanismo de infecção por SARS-CoV-2 em células epiteliais e macrófagos. 1) A fixação do vírus na célula-alvo se dá por meio das proteínas ECA2 e TMPRSS2. 2) O mecanismo de endocitose é ativado e o vírus é introduzido na célula também ativando as vias imunológicas. Dessa forma, as citocinas inflamatórias são produzidas pela ativação do gene inflamatório e uma

tempestade de citocinas pode ser desencadeada. 3) Vírus inicia sua fase de replicação. 4) Através das fases de transcrição e tradução, as proteínas do vírus e o RNA são construídos em compartimentos RE e Golgi. 5) A fase final é caracterizada pela saída do SARS-CoV-2 para infectar outra célula-alvo. Fonte: Adaptado, SILVA et al., 2021.



Verificou-se que a taxa de replicação do novo coronavírus começa a aumentar 4 horas após a infecção (hpi). No entanto, as primeiras alterações celulares induzidas pelo vírus são observadas apenas em 6 hpi. Além disso, a 8 hpi ocorrem mudanças significativas na célula parasitada, conforme visto pelo aparecimento de vesículas de membrana dupla, que estão associadas a uma rede rodeada por mitocôndrias, permitindo-lhe iniciar a replicação. A taxa de replicação aumenta entre 10 e 12 hpi. É durante esse período que as vesículas de transporte do vírus se movem para a membrana citoplasmática, liberando as partículas virais por exocitose, como mostra a figura 1 (EYMIEUX et al., 2021).

O genoma SARS-CoV-2 possui quatorze quadros de leitura aberta (ORF), dois dos quais são os mais importantes: ORF1a - responsável pela codificação do produto de poliproteína PP1a, que dá origem às proteínas que compõem o complexo de replicação-transcrição (RTC) e ORF1ab. Uma vez codificada, a poliproteína PP1a sofre clivagem proteolítica por proteases virais, gerando dezesseis proteínas não estruturais (Nsp1 - Nsp16) que compõem o RTC (V'KOVSKI et al., 2020). Uma vez que o RTC é montado, o RNA viral de sentido positivo é replicado em um (-)ssRNA, que será usado tanto para a síntese de novos (+)ssRNAs quanto para a transcrição de proteínas estruturais no retículo

endoplasmático. Depois de transcritas, as proteínas são complexadas e amadurecem para formar os novos vírions em vesículas produzidas pelo aparelho de Golgi. Como mencionado acima, esses vírions são liberados da célula por exocitose (ARYA et al., 2021).

Em relação ao principal local de infecção do vírus, as porções superior e inferior do trato respiratório são cobertas principalmente por um epitélio ciliado, colunar e pseudoestratificado. Apesar da presença de outras células, como células basais e células produtoras de muco, o foco da análise da expressão dos receptores são as células ciliadas. No entanto, para falar sobre a expressão de ECA2 e TMPRSS2 no trato respiratório humano, é importante notar que alguns fatores clínicos como sexo, idade ou presença de comorbidades podem alterar a expressão dessas proteínas (ORTIZ et al., 2020).

A expressão da ECA2 foi observada em 20% do total de células do trato respiratório, variando amplamente entre as regiões do trato respiratório superior e inferior, o que poderia explicar a alta transmissibilidade do SARS-CoV-2. Em contraste, níveis reduzidos de ECA2 foram encontrados na traqueia, brônquios e bronquíolos, o que pode explicar a ausência de doença primária das vias aéreas, como bronquite (ORTIZ et al., 2020).

Assim, após se alojar no epitélio nasal, o vírus assume o controle da maquinaria da célula para se replicar e invadir novas células. Durante esse estágio inicial, se o sistema imunológico não conseguir combater a SARS-CoV-2, ele prossegue para invadir os pulmões, onde infecta os alvéolos e sequestra uma pequena população de células alveolares do tipo II com alta expressão de ECA2 e outros genes pró-virais para sua replicação, interrompendo a transferência de oxigênio para o resto do corpo (HARRISON et al., 2020).

Apesar do forte direcionamento para as vias respiratórias superior/inferior, o vírus por meio do tropismo celular, tem a propriedade de infectar um determinado tipo de célula ou um tecido específico para desencadear seu mecanismo de infecção. O vírus SARS-CoV-2 utiliza o sistema respiratório como principal alvo, como demonstrado anteriormente, porém, pode ser observado em outros órgãos como rins, pâncreas, intestino delgado, coração e cérebro (BRADLEY et al., 2020; LIU et al., 2021).

Vários estudos usaram dados de RNA-seq para traçar o perfil de expressão de ECA2 em vários tecidos de diferentes órgãos humanos e previram que além do sistemas respiratório, os sistemas gastrointestinal, cardiovascular, urinário e nervoso são vulneráveis à infecção (HIKMET et al., 2020; SINGH et al., 2020; HAMMING et al.,

2004; LIU et al., 2021; ZOU et al., 2020). Achados histopatológicos publicados por Bradley et al. (2020) mostraram danos pulmonares como a principal causa de morte, bem como danos no coração, rins e trato gastrointestinal devido à presença de vírus e, consequentemente, alta expressão de ECA2-R nestes tecidos. Além disso, o RNA viral foi detectado em linfonodos, amostras de sangue e linfócitos na submucosa traqueal do paciente, indicando que o vírus pode ser transportado por linfócitos na corrente sanguínea (BRADLEY et al., 2020).

Resumidamente, de acordo com Zhu et al. (2020), os principais efeitos citopáticos detectados devido à infecção pelo SARS-CoV-2 foram a fusão celular e a formação de uma estrutura em rede, deformação e desordem na polaridade, vesículas esféricas de membrana dupla em células ciliadas e secretoras, agregação de mitocôndrias desnaturadas e retículo endoplasmático aumentado na superfície das células ciliadas, agregação de organelas celulares e vesículas secretoras na área superior da célula secretora, alta presença do vírus em microvilosidades e cílios, formação de células sinciciais e indução de apoptose em células do sítio inflamatório.

Em relação ao genoma desse vírus, desde que foi descoberto em Wuhan, China, em 2019, ele sofreu inúmeras mutações, principalmente relacionadas à infecção generalizada em diferentes locais onde o vírus se espalhou. Algumas dessas variantes, no entanto, causaram preocupação devido às taxas mais altas de transmissão, virulência ou infectividade. Atualmente, as variantes de preocupação mais discutidas são a variante Alfa (B.1.1.7) identificada no Reino Unido; Variante Beta (B.1.351) identificada pela primeira vez na África do Sul; a variante gama (P1), identificada pela primeira vez no Brasil; variante Delta (B.1.617.2) identificada no Estados Unidos; a variante ômicron (B.1.1.529) identificada em países da Europa, dentro outras variantes já identificadas (WHO, 2021; WANG et al., 2021).

3.2 RESPOSTA IMUNOLÓGICA PROMOVIDA PELO SARS-CoV-2

Após estabelecer o processo de infecção nas células epiteliais pulmonares pelo SARS-CoV-2, essas células inicialmente produzem a citocina IL-8, que atua como quimioatraente para neutrófilos. Os neutrófilos passam pelo endotélio (diapedese) para o local da infecção, produzindo uma explosão oxidativa e secreções, e liberando armadilhas extracelulares de neutrófilos (NETs) (BRONDANI et al., 2020; LEVI et al., 2020). Porém, essa liberação excessiva de NETs torna o muco pulmonar espesso e viscoso, não

só dificultando a ventilação, mas também facilitando a colonização de bactérias oportunistas e, conseqüentemente, diminuindo a função respiratória do paciente. Além disso, a neutrofilia observada na COVID-19 promove a formação de trombos microvasculares pela associação entre NETs e plaquetas, conforme evidenciado no exame post-mortem dos pulmões de pacientes com COVID-19 (especialmente pacientes com rápida progressão da doença e morte súbita), e em aspirados traqueais de pacientes intubados na UTI (MIDDLETON et al., 2020; SKENDROS et al., 2020).

As partículas virais contendo (+)ssRNA agem como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e, no local da infecção, induzem uma forte resposta imune inata após o reconhecimento pelo receptor Toll-like 7 (TLR7), que é expresso na superfície de monócitos, macrófagos e células dendríticas (DC) (KHANMOHAMMADI et al., 2021; PROMPETCHARA et al., 2020). TLR7 pode ativar várias vias de sinalização e fatores de transcrição, como transdutores Janus Quinase (JAK/STAT), fator nuclear κ B (NF- κ B), proteína ativadora 1 (AP-1), fator de resposta de interferon 3 (IRF3) e IRF7. Esta cascata de sinalização leva ao aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6, proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1), MIP-1A, fator de necrose tumoral α (TNF- α) e, finalmente, interferon 1 (IFN1). Esses eventos subsequentes estimulam a apresentação do antígeno que causa a ativação de uma resposta imune adaptativa específica (humoral e/ou celular) no hospedeiro (ASTUTI et al., 2020; FELSENSTEIN et al., 2020; ROKNI et al., 2020; TAGHIZADEH-HESARY et al., 2020).

Em seguida, células apresentadoras de antígenos específicos (APCs), como macrófagos e células dendríticas, estimulam a ativação de linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺ nos tecidos e nódulos linfáticos próximos ao local da infecção, liberando citocinas pró-inflamatórias através da via de sinalização NF κ B (LI et al., 2020a, b). Os linfócitos T CD4⁺ estimulam a ativação dos linfócitos B, que secretam anticorpos específicos do vírus, enquanto os linfócitos T CD8⁺ específicos do antígeno matam as células infectadas pelo vírus. Além disso, os linfócitos Th17 (um subtipo de linfócitos T CD4⁺) e os neutrófilos secretam IL-17, que por sua vez estimula a produção de IL-1, IL-6, IL-8, MCP-1, G-CSF, GM-CSF, TNF- α e PGE2 de forma autócrina e parácrina (NILE et al., 2020; ZHOU et al., 2020a). Além disso, foi relatado que a expressão de IL-17 se correlaciona com várias doenças respiratórias inflamatórias, como SARS, MERS e H1N1 (CHANNAPPANAVAR et al., 2017; LIU et al., 2020a).

Todos esses mediadores podem aumentar o recrutamento de novos neutrófilos, monócitos e macrófagos para o sítio inflamatório. Em casos graves, a COVID-19 pode resultar em infiltração pulmonar extensa por macrófagos, neutrófilos e outras células do sistema imunológico, levando a dano alveolar difuso, que envolve a grande rede vascular pulmonar justaposta (MCGONAGLE et al., 2020).

Semelhante a outros coronavírus, a proteína N do SARS-CoV-2 inibe IFN1 regulando a síntese e sinalização de IFN- β . A eficácia da imunidade inata contra a infecção viral depende principalmente da produção de IFN1 e sua sinalização a jusante que resulta no controle da replicação viral e na indução de uma resposta imune adaptativa adequada (INFANTINO et al., 2020). No entanto, o vírus pode prevenir esse ataque devido à complexa desregulação imunológica causada pela infecção. A estimulação crônica de células T pode resultar na exaustão dessas células (função efetora diminuída e menos capacidade proliferativa) e uma tempestade de citocinas, enfraquecendo as defesas gerais do corpo e colocando o paciente em risco de danos graves e morte (DIAO et al., 2020; ZHENG et al., 2020).

Essa superativação de linfócitos leva à superexpressão de receptores inibitórios, incluindo CD279 (PD-1), uma proteína de superfície da superfamília Ig e um membro da família CD28/CTLA-4 de reguladores de células T (BELLESI et al., 2020; RHA et al., 2021). PD-1 é um importante agente regulador positivo da verificação de células T para a modulação da apoptose, o que acaba resultando na subsequente desregulação das células B e apoptose das mesmas. Paralelamente, a contagem de células NK se esgota como resultado da rápida multiplicação do vírus pelas células do tecido infectado. Todo esse processo resulta na linfopenia periférica geral observada em pacientes com COVID-19, especialmente em casos graves (CHIAPPELLI et al., 2020; MAHMOUDI et al., 2020; PASRIJA et al., 2021).

Tradicionalmente, a imunidade celular é responsável por limpar uma infecção viral estabelecida, enquanto as respostas imunes humorais desempenham um papel mais crítico na prevenção de infecções futuras. Embora a infecção por SARS-CoV-2 induza respostas de anticorpos, os níveis de anticorpos podem ser dependentes da gravidade da doença e do inóculo do vírus. Após a eliminação viral, não há mais estimulação e proliferação de novas células B (LONG et al., 2020). Os anticorpos IgG e IgM foram encontrados em indivíduos assintomáticos com teste positivo para SARS-CoV-2, mas esses anticorpos estavam presentes em níveis marcadamente mais baixos do que em pacientes com COVID-19. Os anticorpos para a proteína *spike* e seu domínio de ligação

ao receptor (RBD) são os principais alvos dos anticorpos neutralizantes, pois evitam que o vírus se ligue a células alvo por meio de seu receptor ECA2 (IBARRONDO et al., 2020; LIU et al., 2020b; SEKINE et al., 2020).

3.3 IMUNOPATOLOGIA DA COVID-19

Em relação às doenças, sabe-se que uma das portas de entrada do vírus nas células é pelo receptor da enzima conversora de angiotensina-2 (ECA2), altamente presente nos tecidos respiratórios. A expressão de ECA2 foi demonstrada em análises de células únicas (*single-cell*) de células epiteliais na mucosa oral, fígado, rim, intestino e coração, e ao nível de proteína em células epiteliais alveolares (BRODIN, 2021). Além do dano celular intrinsecamente causado pela infecção por SARS-CoV-2, uma resposta imune energética (hiperinflamação) foi observada na fisiopatologia da COVID-19. Em vários casos, a resposta imune resolve a infecção. Porém, em outros, ocorre um estado de hiperinflamação, com altos níveis de sinalização inflamatória, recrutamento de células imunes e consequente lesão celular, o que agrava o dano tecidual.

O estado disfuncional e a morte celular são traduzidos em distúrbios funcionais que caracterizam os sintomas e o curso clínico da doença (HUANG et al., 2020). A evidência atual sugere que a síndrome hiperinflamatória de COVID-19, que promove lesão pulmonar grave, além de provocar lesão em outros órgãos, como citado anteriormente, resulta inicialmente de uma resposta imune inata desregulada nos tecidos pulmonares (POLIDORO et al., 2020; OPITZ et al., 2020). As análises histopatológicas obtidas até o momento são especialmente importantes para a compreensão da infecção por SARS-CoV-2 uma vez que permite unificar as observações clínicas com as alterações moleculares na circulação sanguínea e nos tecidos.

Os achados histopatológicos mostraram que a patologia predominante nos tecidos pulmonares de pacientes com COVID-19 grave é o dano alveolar difuso (FOX et al., 2020; YAZDANPANA et al., 2020; RANUCCI et al., 2020). Esse padrão patológico pulmonar agudo é caracterizado por lesão segmentar difusa e severa da barreira alvéolo-capilar, presente nos pulmões de pacientes que desenvolveram síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) decorrente da síndrome hiperinflamatória promovida pela COVID-19. Partículas virais foram observadas em pneumócitos tipo 1 e tipo 2 (ACKERMANN et al. 2020). Embora geralmente associados à produção de surfactante, os pneumócitos do tipo 2 têm demonstrado desempenhar um papel crítico na resposta

imune inata. Nessas células, a ativação induz a superprodução de citocinas, ativação de macrófagos residentes e recrutamento de várias células imunes para o local da lesão. O ataque direto e estimulação de pneumócitos tipo 2 podem, portanto, exacerbar a produção de citocinas em pacientes com COVID-19.

A superprodução de citocinas aumenta a permeabilidade da membrana das paredes capilares ao redor dos pneumócitos tipo 2 infectados, resultando na introdução do fluido plasmático nos alvéolos. A entrada de fluido plasmático nos alvéolos e a elasticidade reduzida devido à produção reduzida de surfactante podem causar o edema abundante observado em análises patológicas. O dano alveolar difuso promove várias lesões, como (1) a liberação de mediadores pró-inflamatórios via macrófagos alveolares e células epiteliais pulmonares; (2) comprometimento da função do surfactante nos tecidos pulmonares, diminuindo a complacência pulmonar e a estabilidade alveolar; (3) indução da formação de membranas hialinas; (4) promoção de descamação focal de pneumócitos alternando com hiperplasia de pneumócitos tipo II e formação de células sinciciais gigantes; (5) um aumento na permeabilidade do endotélio pulmonar devido à superexpressão do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) e moléculas de adesão celular (CAMs); (6) estimulação da infiltração de neutrófilos e monócitos inflamatórios e linfócitos T citotóxicos ($CD8^+$), resultando em dano tecidual; (7) promoção do aumento da produção de plaquetas, fibrinogênio e outros fatores pró-trombóticos e (8) impactos diretos no sistema calicreína-quinina (KKS) e no sistema renina-angiotensina (SRA), resultando em coagulação. Além disso, o desenvolvimento de aglomerados focais de fibrina misturados com células inflamatórias mononucleares e células multinucleadas gigantes nos espaços aéreos resulta na formação de fibrose nos pulmões (POLIDORO et al., 2020; BLANCO-MELO et al., 2020; CHUA et al., 2020; XIONG et al., 2020; OPITZ et al., 2020; LIAO et al., 2020; HIRAIWA et al., 2020; ISLAM et al., 2020; TOLOUIAN et al., 2020).

3.4 ACHADOS DE IMAGEM DA COVID-19 E SUAS IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Embora os achados histopatológicos sejam de fundamental importância para o entendimento da patologia, o recurso de imagens é uma ferramenta decisiva para o diagnóstico clínico. Estudos publicados por Ng et al., (2020) revelaram que opacidades em vidro fosco e consolidação na periferia pulmonar têm sido os achados predominantes em exames de tomografia computadorizada de tórax em pacientes com COVID-19. Esses

achados podem ser o resultado de danos alveolares difusos, hemorragias alveolares e edemas pulmonares, derivados dos processos hiperinflamatórios já comentados (KONG e AGARWAL, 2020; NG et al., 2020; DE SOUZA SILVA et al., 2020).

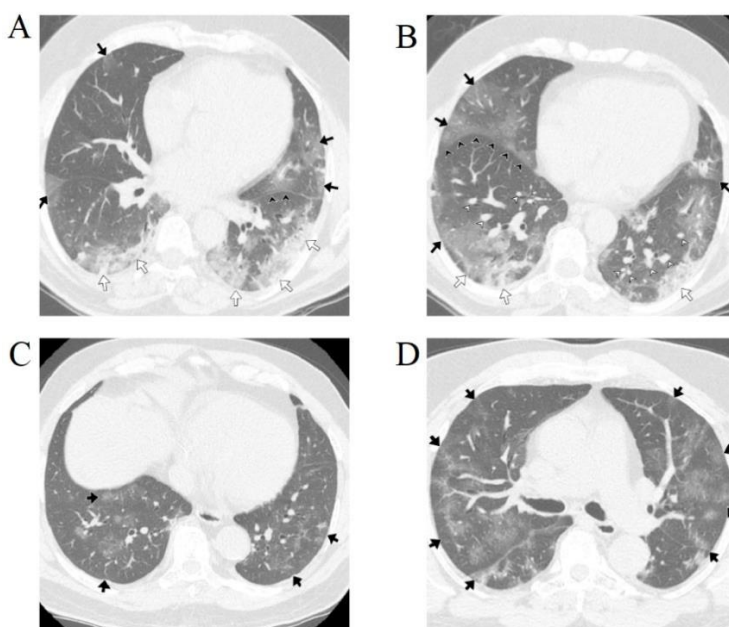
É importante frisar que os achados de imagem do tórax de COVID-19 são comuns, mas não específicos para esta doença, parecendo semelhantes a outras infecções respiratórias virais (SARS, MERS, H1N1) (CLEVERLEY et al., 2020). A radiografia de tórax é rotineiramente escolhida como o teste de imagem primário para avaliar indivíduos com COVID-19 presumido ou estabelecido. Os achados mais comumente descritos de COVID-19 por radiografia de tórax flutuam, variando de normal nos estágios iniciais da doença a consolidação pulmonar unilateral ou bilateral. Já a tomografia computadorizada (TC) revela uma das disfunções mais prevalentes, as opacidades em vidro fosco, regularmente em lobo inferior e distribuição notavelmente periférica. Além disso, a TC é capaz de demonstrar como o envolvimento pulmonar periférico e subpleural é uma das marcas mais prevalentes dessa infecção, uma vez que, à medida que a doença evolui, as opacidades pulmonares podem emergir rapidamente em direção a um padrão difuso ou consolidado (figura 2 A-B). A tomografia computadorizada (TC) pode ainda facilitar a pontuação quantitativa reproduzível da gravidade com relevância clínica, o que pode ser especialmente útil na identificação da doença leve, moderada ou grave, avaliando a extensão da doença no cenário de anormalidades pulmonares basais (KANNE et al., 2021).

De fato, numerosos estudos examinando a relação da gravidade das anormalidades pulmonares em radiografias com a gravidade da doença mostraram que os escores que indicam extensão e intensidade aumentadas das opacidades pulmonares estão ligados a manifestações clínicas de maior gravidade, taxas mais consideráveis de admissão à unidade de terapia intensiva e mortalidade. Em contraste, os pacientes com COVID-19 e radiografias normais ou quase normais normalmente têm um curso clínico favorável (REVZIN et al., 2020).

A TC de tórax é capaz de revelar muitas alterações pulmonares importantes na COVID-19 como consolidação, opacidade linear, espessamento e/ou reticulação septal, padrão pavimentado em mosaico, broncograma aéreo, espessamento pleural, sinal do halo, bronquiectasia, nódulos, espessamento da parede brônquica e sinal do halo invertido (ADAMS et al., 2020). Entretanto, em mais de 70% dos casos de COVID-19 ocorre a prevalência de aumento vascular e multifocal periféricos bilaterais, com ou sem

consolidações focais adjacentes à pleura, incluindo as fissuras pulmonares (Figura 2 C-D).

Figura 2. A tomografias computadorizada de tórax axial. **A-B** – TC de tórax mostra opacidade do espaço aéreo em vidro fosco (setas pretas), com predomínio nas regiões periféricas. **C-D** – TC de tórax axial mostra opacidade do espaço aéreo em vidro fosco periférico bilateral consolidativo bilateral (setas brancas), multifocal bilateral adjacente à pleura (setas pretas), incluindo as fissuras pulmonares (seta pretas), com predomínio nas regiões periféricas. Nódulos pulmonares bem circunscritos são identificados em ambos os pulmões (seta branca).



3.5 ACHADOS LABORATORIAIS DA COVID-19

3.5.1 *Investigação hematológica e bioquímica*

A importância dos testes laboratoriais é muito mais do que apenas detecção etiológica, mas agora também está efetivamente envolvida no monitoramento epidemiológico, avaliação do prognóstico, acompanhamento de casos e monitoramento terapêutico. Os exames laboratoriais podem ainda fornecer suporte essencial para discriminar entre COVID-19 grave e não grave. Os resultados dos exames laboratoriais comuns em pacientes internados no hospital com COVID-19 incluem linfopenia, aminotransaminase elevada e desidrogenase láctica (DHL). A linfopenia é um dos achados mais comuns em pacientes com COVID-19. A contagem de linfócitos é um biomarcador influente de gravidade entre os pacientes COVID-19, pois vários pacientes

que evoluíram para óbito apresentaram linfopenia alta (LAM et al., 2020; HUANG et al., 2020).

Níveis plasmáticos mais elevados de DHL no momento da admissão aumentaram a chance de morte e minimizaram a possibilidade de recuperação, o que está de acordo com um crescente corpo de evidências (HENRY et al., 2019). O fígado é o órgão lesado com mais frequência fora do sistema respiratório na COVID-19. O mecanismo do dano hepático não é completamente compreendido, embora seja provavelmente multifatorial e atribuível a uma doença viral primária que resulta em dano aos colangiócitos, lesão relacionada ao sistema imunológico e/ou hepatotoxicidade por drogas. A lesão hepática se manifesta como elevação dos níveis de enzimas hepáticas. Os dados atuais apontam que 14,8% à 53% dos pacientes com COVID-19 possuem níveis anormais de aspartato aminotransferase (TGO) e alanina aminotransferase (TGP) ao longo do curso da doença e leve elevação nos níveis de bilirrubina sérica (HUANG et al., 2020; BANGASH et al., 2020).

3.5.2 Análises Microbiológicas

Em relação as análises microbiológicas nos pacientes com COVID-19, diversos vários estudos mostram que a ocorrência de co-infecções bacterianas secundárias está diretamente associada ao agravamento da COVID-19 (LANGFORD et al., 2020; LANSBURY et al., 2020; KOOISTRA et al., 2021). Como exemplo, um estudo multicêntrico que analisou 476 pacientes com COVID-19, infecções bacterianas secundárias foram significativamente associadas aos desfechos grave da doença (FENG et al., 2020). Zhou et al. (2020b) também evidenciaram que entre 191 pacientes com COVID-19, as coinfeções bacterianas ocorreram em 15% de todos os casos, incluindo 50% dos não sobreviventes, embora 95% dos pacientes tenham recebido antibióticos.

Atualmente, bactérias multirresistente são comumente encontradas em ambientes hospitalares, segundo FATTORINI et al. (2021) alguns dos co-patógenos frequentemente identificados em pacientes internados durante a COVID-19 são bactérias como *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* dentre outros microrganismos que grande importância clínica. Nesse sentido, Castaldi et al. (2020) analisando 74 pacientes com COVID-19 mostraram a presença de 13 espécies de bactérias, sendo elas *Bacillus clausii*, *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Morganella morganii*, *Proteus mirabilis*, *Providencia stuartii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus*

aureus, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*. Já Li et al. (2020c) mostraram três espécies principais de bactérias a *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* e *Staphylococcus maltophilia* como as principais causas de infecções pulmonares bacterianas secundárias em pacientes com COVID-19. Entre as bactérias gram-positivas, um estudo com 29.802 pacientes hospitalizados com COVID-19 mostrou que *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecalis* e *Staphylococcus aureus* foram os principais achados associados a infecção secundária (SENOK et al., 2021). Assim, infecções bacterianas secundárias em pacientes com COVID-19 são relativamente comuns e estão significativamente associadas a maior mortalidade de pacientes internados.

As lesões pulmonares induzidas pela infecção por SARS-CoV-2 e avaliadas por tomografia computadorizada de tórax estão associadas ao aumento da resposta inflamatória, piora das trocas gasosas e danos a vários órgãos, conforme evidenciado por dados de testes laboratoriais. Assim, os achados de imagem, diversos exames laboratoriais e microbiológicos são de grande valia para a decisão da equipe médica, pois podem indicar o melhor manejo do paciente, bem como o curso clínico da doença.

4. METODOLOGIA

4.1 LOCAL DO ESTUDO, LABORATÓRIOS ENVOLVIDOS E CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

A pesquisa foi realizada com pacientes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (HC-UFPE), com apoio do Laboratório de Análises Imunológicas e Antitumorais do Departamento de Antibióticos e do Laboratório de Estudos Moleculares e Terapia Experimental (LEMTE), do Departamento de Genética, ambos da UFPE. As análises hematológicas e bioquímicas foram realizadas no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital das Clínicas e as leituras de citometria foram realizadas no Laboratório de Multiusuários do Instituto de Biologia da Universidade de Pernambuco (UPE). A pesquisa foi devidamente aprovada no Comitê de Ética em Pesquisas envolvendo Seres Humanos do Centro de Ciências da Saúde da UFPE sob nº de registro 4.206.047/2020, CAAE 30332120.8.3001.5191) e as amostras biológicas foram coletadas somente após a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) de cada paciente.

4.2 PACIENTES E CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para o estudo foram incluídos pacientes com diagnóstico positivo para COVID-19 através do teste de RT-PCR e/ou pelo teste de antígeno realizados pela Secretaria Estadual de Saúde – LACEM-PE ou pelo Laboratório de Diagnóstico de COVID-19, implementado temporariamente durante a pandemia, do Núcleo de Pesquisa em Inovação Terapêutica – NUPIT/UFPE. Todos os 85 pacientes desse estudo, cuja amostra foi de conveniência, estiveram internados no Hospital das Clínicas na enfermaria ou na UTI. Seus respectivos tratamentos, exames laboratoriais e acompanhamento clínico foram todos desenvolvidos no hospital entre o período de julho de 2020 a abril de 2021. Os critérios de inclusão abrangeram diagnóstico positivo para COVID-19 e necessidade de internamento. A presença de comorbidades, doenças imunossupressoras, câncer ou HIV não foram fatores excludentes para essa pesquisa.

4.3 COLETA DE SANGUE E PROCESSAMENTO AMOSTRAL

4.3.1 Obtenção de sangue e processamento hematológico

A obtenção de sangue dos pacientes ocorreu através de coleta em tubo de EDTA (VACUTAINER BD[®]) e o processamento investigou o eritograma (eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (MHCM) e largura de distribuição de glóbulos vermelhos (RDW)), e o leucograma (leucócitos totais, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos típicos, monócitos e contagem de plaquetas). Todas as amostras foram adquiridas e analisadas pelo equipamento Yumizen H2500[®], seguidas de revisão por lâminas em microscopia óptica. O coagulograma das amostras foi obtido através de um analisador automático STA Compact Max[®].

4.3.2 Obtenção de soro e processamento bioquímico

A obtenção de soro dos pacientes ocorreu através de coleta em tubo seco (VACUTAINER BD[®]) e o processamento investigou parâmetros bioquímicos como creatinina, creatina fosfoquinase (CPK), lactato desidrogenase (DHL), ferritina, gama glutamil transferase (GGT), transaminase oxaloacética (TGO), transaminase glutâmico-pirúvica (TGP), ureia, proteína C reativa (PCR), bilirrubina, D-dímero e fosfatase alcalina (FA), Tempo de protrombina (TP), AE, INR, Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa), RATIO e fibrinogênio. O equipamento automatizado utilizado foi o Architect i2000SR[®] (Abbot[®]). Além disso, foi investigado o ionograma das amostras (sódio, potássio, cloreto, cálcio, magnésio e fósforo) através do equipamento CMD 800i[®] (Wiener lab[®]).

4.3.3 Dosagem de citocinas plasmáticas

Com as mesmas amostras de soro coletadas foi feita a investigação de citocinas plasmáticas utilizando o kit CBA Th1/Th2/Th17 (Bioscience BD[®]), que detecta simultaneamente as citocinas IL-2, -4, -6, -10, -17, TNF- α e IFN- γ . O processamento das amostras foi realizado segundo protocolo do fabricante e a aquisição foi realizada em plataforma de citometria FACS-VERSE (Bioscience BD[®]), em 2100 eventos, com análise no software Flowing 2.01[®].

4.3.4 Isolamento de PBMC e imunofenotipagem

As amostras de sangue obtidas pela coleta em tubos de EDTA sofreram processamento para isolamento de células imunológicas através do gradiente de Ficoll 1.07 (Bioscience BD[®]) na proporção 1:3 (sangue:Ficoll / v:v), seguida de centrifugação (30 min / 1600 rpm) e duas lavagens com PBS 1X (10 min / 1600 rpm). Com o pellet celular resultante, as células foram marcadas com os anticorpos específicos para a identificação de subpopulações linfocitárias como CD3, CD4, CD8, CD19, CD56. As aquisições foram realizadas em plataforma de citometria FACS-VERSE (Bioscience BD[®]), em 10.000 eventos, com análise no software Flowing 2.01[®].

4.4 INVESTIGAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Os SWABS foram utilizados para investigar a presença do microrganismo nas estruturas traqueais, nasais e retais dos pacientes. A urina foi coletada por sonda após antisepsia da região uretral e armazenada em tubo estéril próprio para urocultura. Para a hemocultura, as amostras de sangue foram armazenadas em tubos de hemocultura BD Bactec/F tipo vacuette para organismos Aerobic/F, Anaerobic/F e Myco/F (contendo 10 ml de sangue em cada tubo), após antisepsia com clorexidina alcoólica a 0,5%. Para isso, os métodos utilizados para diagnóstico laboratorial microbiológico a partir das lesões aparentes em pacientes com COVID-19 foram realizados a partir de coletas preconizadas por Koneman e Allen (2008). Imediatamente após a coleta, as amostras clínicas foram semeadas em ágar sangue e ágar McConkey, e incubadas a temperatura de 35 °C a 37 °C por 18 a 24 horas. Após o crescimento, as bactérias foram identificadas por testes fenotípicos e bioquímicos. Foi realizado teste da catalase, nos isolados de *Staphylococcus* spp., e tiveram crescimento avaliado em ágar DNase e resistência a novobiocina. Bactérias catalase negativas que foram alfa-hemolíticas foram semeadas em ágar bile-esculina e infusão, enquanto que bactérias catalase negativo e betahemolíticos passaram pelo teste de CAMP, bacitracina e PYR. Bactérias isoladas a partir do ágar McConkey, foram identificadas por testes laboratoriais definidos no protocolo do Clinical and Laboratory Standards Institute.

Nos casos sugestivos de leveduroses e filamentosos, o material coletado foi analisado através do exame direto preparado com KOH a 20% e a fresco (sem clarificante, corante ou contrastante). A identificação dos fungos foi baseada nos estudos macro e

micro morfológicos. Para as leveduras, foi necessário a realização de testes bioquímicos e fisiológicos.

4.5 INVESTIGAÇÃO CLÍNICA

A investigação clínica dos pacientes ocorreu através da análise de prontuários onde foram correlacionados os aspectos de anamnese no ato de internação, sintomatologia no decorrer da doença, medicamentos utilizados, exames de imagem, exames laboratoriais, tempo de internamento, presença de comorbidades e coinfeções e desfecho da doença na alta hospitalar.

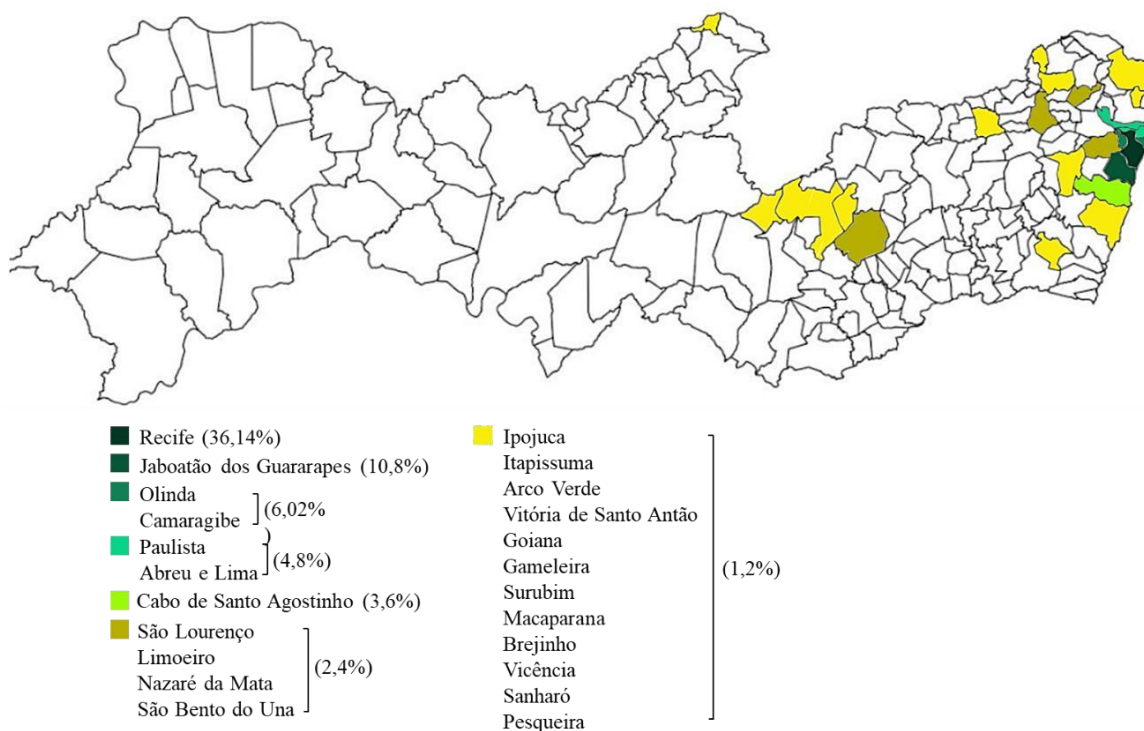
4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados amostrais passaram pelo teste de normalidade de D'Agostino seguido do teste de análise de variância (ANOVA). A comparação entre grupos ocorreu através do teste de Mann Whitney. Os dados foram analisados com auxílio do Software Graphpad Prism[®] para Windows, versão 9.0.

5. RESULTADOS

Este estudo investigou o processo de internamento, desenvolvimento da doença e desfecho de pacientes com COVID-19, durante a pandemia, tanto na enfermaria quanto na UTI de um hospital-escola público do estado de Pernambuco. Foram obtidas amostras de 85 pacientes que desenvolveram COVID-19 moderada ou grave (63/74% de enfermaria e 22/26% de UTI, respectivamente), com idades entre 18 e 87 anos ($54,7 \pm 16$ anos) sendo a maioria composta por mulheres ($n = 50 / 54\%$). Quanto ao local de residência, embora existam moradores da região Agreste e Zona da Mata do estado de Pernambuco, a maioria dos pacientes atendidos são da região Metropolitana, com destaques para Recife (36,14%) e Jaboatão dos Guararapes (10,8%) (Figura 3).

Figura 3. Representação geográfica dos municípios de moradia dos pacientes diagnosticados com COVID-19 e internados no HC-UFPE



Os aspectos clínicos e perfil de desenvolvimento da doença dos pacientes de Enfermaria e UTI observados nesse estudo são bastante distintos e foram processados a partir dos prontuários de internamento hospitalar. Os resultados de ocorrência clínica, os quais abrangem em grande parte a sintomatologia e condição fisiológica geral podem ser observados na Tabela 1. Os sintomas como dispneia (74,41% e 45,45%), febre (55,17% e 27,27%) e suplementação de O₂ (13,79% e 100%) para Enfermaria e UTI, respectivamente, forma os mais prevalentes. Dados de maior gravidade foram observados nos pacientes internados na UTI e que apresentavam comorbidades, com destaque para hipertensão (34,48% para Enfermaria e 70% para UTI) (Tabela 2).

Tabela 1: Parâmetros de ocorrência clínica nos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

Ocorrências clínicas	Enfermaria (%)	UTI (%)
Dispneia	74,41	45,45
Tosse	58,68	18,18
Febre	55,17	27,27
Taquipneia	27,59	9,09
Queda na saturação de O ₂	24,17	-
TC de tórax evidenciando estruturas em vidro fosco	20,69	36,36
Suplementação de O ₂	13,79	100*
SRAG	-	100

Cefaleia	-	9,09
Dor na garganta	3,45	-
Anosmia	6,90	-
Ageusia	3,45	-
Náuseas	3,45	9,09
Vômitos	-	9,09
Insuficiência respiratória aguda	-	9,09
Saturação limite	-	9,09
Insuficiência cardíaca	-	9,09
Infarto agudo do miocárdio	3,45	9,09
Odinofagia	3,45	-
Dorsalgia	3,45	-
Mialgia	6,90	-
Dor abdominal	3,45	18,18
Diarreia	6,90	9,09
Inapetência	3,45	-
Desvio de traqueia + drenagem pleural	-	18,18
Hemodiálise	-	18,18
Encarceramento pulmonar/ lesão pleural com coágulos	-	9,09
Adenocarcinoma de próstata	-	
Invasão de bexiga com hematúria óssea com lesões líticas vertebrais	-	
Acidente Vascular Cerebral (AVC)	-	
Insuficiência renal	-	
Traqueostomia	-	-
* Através de intubação		

Tabela 2. Principais comorbidades observadas nos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

Ocorrências clínicas	Enfermaria (%)	UTI (%)
Sem comorbidades	34,48	0
Hipertensão arterial sistêmica	34,48	70
Obesidade	17,24	20
Diabetes	20,69	10
HIV	10,34	20
Adenocarcinoma de próstata	6,90	10
Hepatopatia crônica	3,45	20
leishmaniose visceral		-
Insuficiência cardíaca		-
Doença arterial crônica		-
Linfoma de Burkitt		-
Fibromialgia	-	-
Monoartrite		10

lesão renal aguda/crônica	-	
Icterícia progressiva	-	
Osteomalácia secundária	-	
Coleção subdural crônica	-	
Empiema	-	
Trombose venosa profunda	-	

Os exames de imagem por Tomografia Computadorizada demonstraram diferentes graus de comprometimento pulmonar entre os pacientes de Enfermaria e UTI. Por se tratar de um hospital público e no meio de uma pandemia, nem todos os pacientes possuem exames de imagem, pois seguiram diretamente para o internamento e recuperação clínica, a prioridade foi para os pacientes de UTI. Para os exames realizados, (12,9% dos pacientes de Enfermaria e 50% dos pacientes de UTI) os achados clássicos como as opacidades em vidro fosco, com distribuição periférica e difusa, consolidações e espessamento de septos interlobulares foram encontrados. Os perfis de frequência dos achados radiológicos realizados podem ser vistos na Tabela 3, bem como uma representação visual dos achados se encontra na Figura 4.

Tabela 3. Consolidação dos achados de Tomografia Computadorizada dos pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

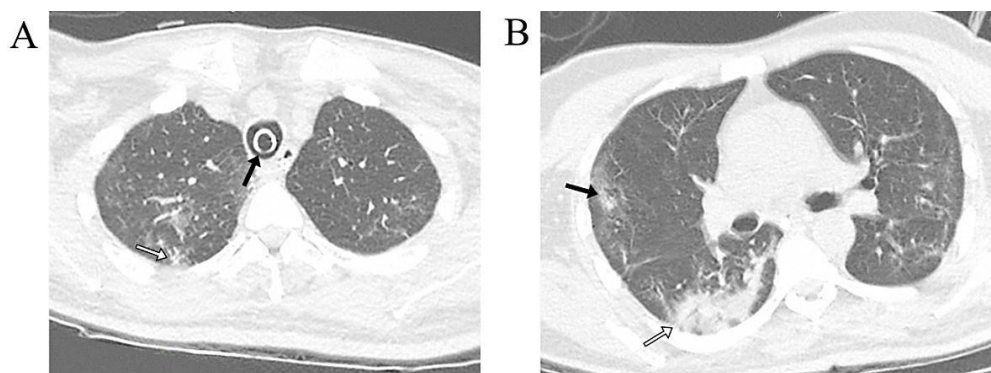
	Achados radiológicos (%)				Grau de acometimento (%)			
	Normal	OVF	CONS	ESI	Ausente	Leve <25%	Moderado 25-50%	Grave >50%
Enfermaria	4,7	5,8	4,7	3,5	4,7	2,3	4,7	1,1
UTI	18,1	31,8	9,0	22,7	18,1	0	13,6	18,1

OVF – Opacidades em vidro fosco

CONS – Consolidações

ESI - Espessamento de septos interlobulares

Figura 4. Tomografias computadorizada de tórax axial em pacientes com COVID-19. **A** - Observam-se múltiplos focos de opacidades periféricas em vidro fosco, além de espessamento de septos intralobulares (seta branca). Nota-se também presença de tubo orotraqueal (seta preta), indicando a gravidade da doença. **B** - Opacidade consolidativa em segmento superior do lobo inferior direito (seta branca). Há também vidro fosco confluyente (seta preta), tendendo a formar consolidação.



O tempo de internamento médio dos pacientes nas Enfermarias do Hospital das Clínicas foi de 6 dias e na UTI foi de 54 dias. A utilização de medicamentos variou conforme a sintomatologia, local de internamento, tempo de internamento e perfil de evolução da doença nos pacientes. Os principais fármacos utilizados na Enfermaria foram os anti-inflamatórios, antibióticos e anticoagulantes. Para a UTI, além dos descritos acima, destacaram-se os antirretrovirais e os ansiolíticos. Todos os medicamentos utilizados podem ser observados na Tabela 4.

Tabela 4. Distribuição dos fármacos utilizados em pacientes de COVID-19 de Enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

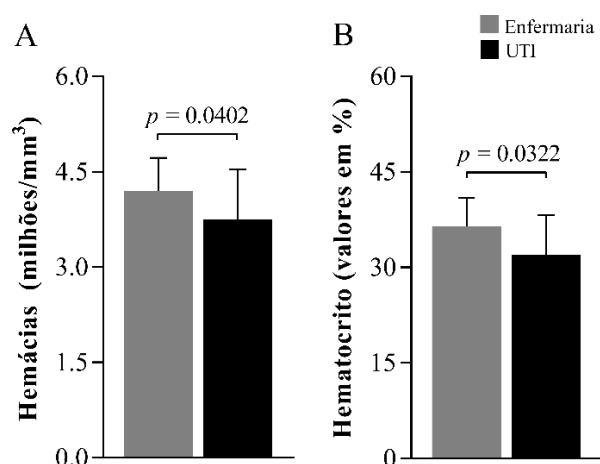
Ação esperada	Medicamentos	Enfermaria (%)	UTI (%)
Anti-inflamatórios, Imunossuppressores e Antialérgicos	Dexametasona	48,26	27,27
	Ácido acetilsalicílico	3,45	9,09
	Metilprednisolona	-	9,09
	Prednisona	6,90	-
Antibióticos	Ceftriaxona	31,03	36,36
	Azitromicina	20,39	27,27
	Clindamicina	3,45	9,09
	Bactrin	3,45	9,09
	Meropenem	3,45	27,27
	Eartepenem	-	18,18
	Polimixina B	-	9,09
	Vancomicina	-	9,09
	Micafungina	-	9,09
	Unasyn	-	9,09
	Ampicilina	-	9,09
	Tobramicina	-	9,09

Antifúngicos e Antiparasitários	Anfotericina B	3,45	9,09
	Ivermectina	-	18,18
Antivirais e antirretrovirais	Aciclovir	3,45	-
	Duranavir	3,45	18,18
	Ritonavir	3,45	18,18
	Reltegravir	3,45	-
	Etravirina	3,45	-
	Deluteragravir	-	18,18
	Lamivudina	-	9,09
Anti-hipertensivos e para insuficiência cardíaca	Anlodipino	10,36	9,09
	Atenolol	6,90	-
	Metoprolol	3,45	-
	Hidralazina	-	9,09
	Carvediol	-	18,18
Anticoagulantes e Antitrombóticos	Enoxaparina	27,41	27,27
	Heparina	-	18,18
	Bissulfato de Clopidogrel	3,45	9,09
Antidepressivos, Ansiolíticos e Anticonvulsivantes	Fluoxetina	3,45	-
	Diazepam	-	9,09
	Quetiapina	-	9,09
	Clonazepam	-	9,09
	Carbonato de lítio	-	9,09
	Mirtazapina	-	9,09
Analgésicos e Opioides	Fentanil	-	9,09
	Tramadon retard	-	9,09
Antieméticos	Domperidona	3,45	-
	Metoclopramida	-	9,09
Antineoplásicos	Eligard	-	9,09
	Zemeta	-	9,09
	Bicalutamida	-	9,09
Vasodilatadores e Broncodilatadores	Sulbtamol	17,25	9,09
	Isossorbida	-	9,09
Lubrificantes ópticos	Lacribell	3,45	-
	Dorzolamida	3,45	-
Carreador de glicose	Insulina	13,79	27,27

Estatina	Sinvastatina	10,36	9,09
Diurético	Hidrocloratiadida	10,36	-
Antiácido	Omeprazol	3,45	9,09
Vitamina D	Colecalciferol	-	9,09
Tratamento de hipotireoidismo	Levotriaxona	-	9,09

Quanto aos parâmetros hematológicos dos pacientes, observou-se que os pacientes internados na UTI apresentaram redução na contagem de hemácias e hematócrito quando comparados aos grupos da enfermaria (Figura 5A-B). Os demais parâmetros hematológicos não apresentaram diferença estatística entre os grupos, e todos os resultados ficaram dentro dos valores de referência.

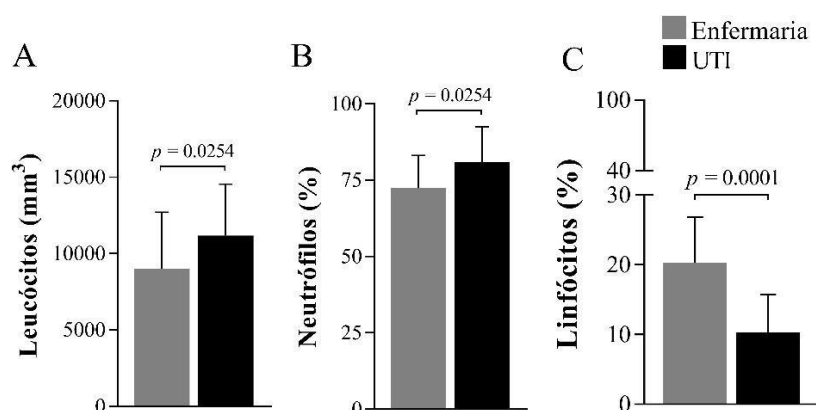
Figura 5. Eritograma dos pacientes diagnosticados com COVID-19 e internados no HC-UFPE. Valores superiores foram encontrados na contagem de hemácias e hematócrito para pacientes que necessitaram de terapia intensiva (UTI). Os valores de p estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.



A leucocitose, que ocorre quando os resultados da contagem total de leucócitos atingem valores superiores a 11.000/mm³, foi observada em 27,4% (n = 17) dos pacientes da enfermaria e em 36,4% (n = 8) dos pacientes da UTI. Esses resultados do leucograma foram diretamente correlacionados ao aumento de neutrófilos, uma vez que 54,8% (n = 34) dos pacientes da enfermaria apresentaram neutrofilia contra 82% (n = 18) dos pacientes da UTI (Figura 6 A-B). Além disso, muitos pacientes apresentaram queda na contagem de linfócitos durante o curso da doença, cerca de 91% (n = 20) dos pacientes

da UTI apresentaram linfopenia, seguido de 79,03% (n = 49) dos pacientes da enfermaria (Figura 2C).

Figura 6. Leucograma de pacientes diagnosticados com COVID-19 internados na Enfermaria e UTI do HC-UFPE. Valores superiores na contagem de neutrófilos e inferiores na contagem de linfócitos foram encontrados. Os valores de *p* estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.



Os resultados dos parâmetros bioquímicos investigados demonstraram que o grupo composto por pacientes da UTI apresentou níveis alterados de marcadores associados a processos inflamatórios como DHL, ferritina, D-Dímero, fibrinogênio e Proteína C reativa (PCR). Entretanto, apenas a DHL, PCR e ferritina apresentaram valores estatísticos (Tabela 5). Os demais parâmetros bioquímicos, assim como os resultados da dosagem de íons não mostrou diferenças significativas entre os grupos.

Tabela 5: Marcadores bioquímicos encontrados em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

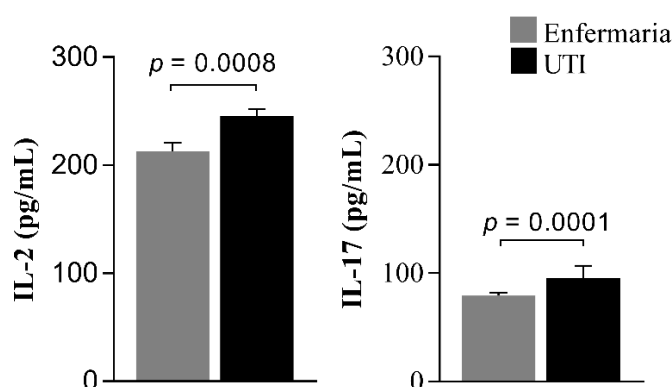
Marcador	Valores de referência	Enfermaria	UTI
Bioquímico			
Creatinina	0,6 – 1,3 mg/dL	0,8 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,3
CPK	<195 mg/dL	57,8 $\pm$ 41,8	40,7 $\pm$ 16,2
DHL*	230 – 460 U/L	357,9 $\pm$ 168,1	501,1 $\pm$ 192
Ferritina	5 – 323 ng/mL	484,2 $\pm$ 273,1	664,8 $\pm$ 338,3
Gama GT	7 – 50 U/L	158,4 $\pm$ 109,7	217,8 $\pm$ 82,1
TGO	<38 U/L	36,8 $\pm$ 19,5	39,3 $\pm$ 18,3
TGP	<41 U/L	49,1 $\pm$ 36,8	59,1 $\pm$ 27,2
Ureia	10 – 50 mg/dL	37,1 $\pm$ 17,3	54,9 $\pm$ 37,5
PCR*	0 – 0,5 mg/dL	4 $\pm$ 4,1	8,9 $\pm$ 6,4

Bilirrubina	<1 mg/dL	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
D-Dímero	<500 ng/mL	1041 ± 680,7	2003 ± 1432
FA	40 – 150 UI/mL	93,2 ± 46,7	139,6 ± 86,1
Hemostasia (Coagulograma)			
TP	10 – 14 s	13,7 ± 1,2	13,3 ± 2,8
AE	<125	93,8 ± 14,6	86,3 ± 7,7
INR	0,8 – 1,2	1 ± 0,1	1,2 ± 0,4
Fibrinogênio*	200 – 400 mg/dL	559,6 ± 119,4	631,3 ± 119,7
TTPA		30 ± 5,5	28,1 ± 2,9
RATIO	< 1,25	1 ± 0,1	0,8 ± 0,1
Ionograma			
Sódio	134 – 149 mmol/L	136,5 ± 4,5	138,6 ± 2,8
Potássio	3,6 – 5,5 mmol/L	4,3 ± 0,5	4,4 ± 0,8
Cloreto	94 - 112 mmol/L	100,6 ± 4,9	103,3 ± 3,8
Calcio	8,4 – 10,2 mg/dL	8 ± 0,7	7,5 ± 1,5
Magnésio	1,46 – 2,2 mg/dL	2,1 ± 0,3	2,2 ± 0,3
Fósforo	2,3 – 4,7 mg/dL	3,3 ± 0,7	3,3 ± 0,9

* DHL ($p = 0,0218$), PCR ($p = 0,0049$) e Ferritina ($p = 0,0162$).

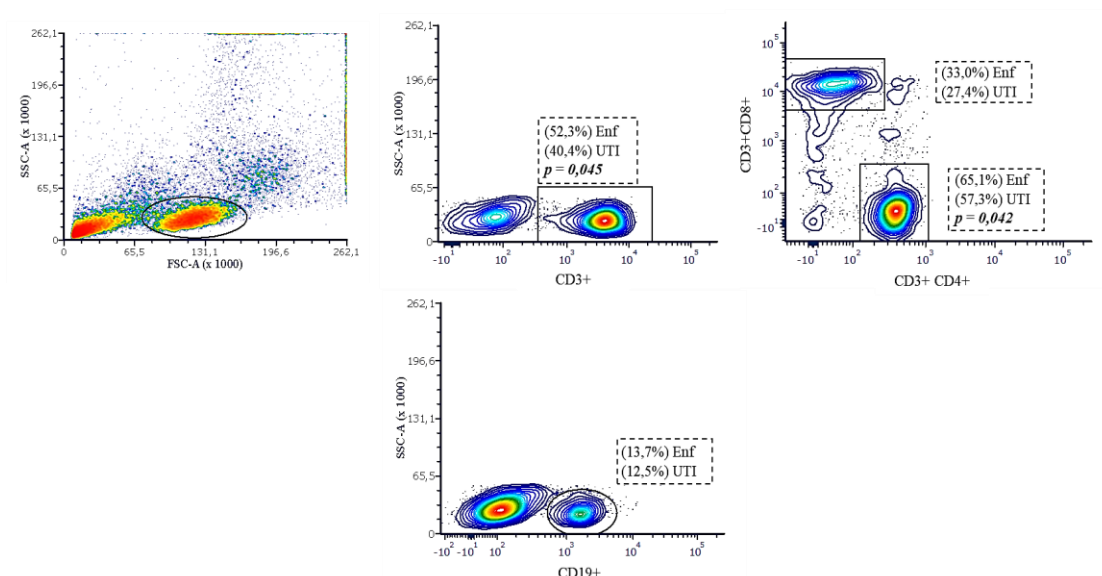
Em relação aos resultados de produção de citocinas, foi possível observar um aumento nos valores de IL-2 ($p = 0,0038$) e IL-17 ($p = 0,0001$) no grupo de pacientes de UTI. Embora as citocinas IL-4 ($198,8 \pm 0,8$ / $197,5 \pm 1,3$), IL-6 ($242,4 \pm 1,6$ / $242,7 \pm 2,6$), IL-10 ($207,9 \pm 0,6$ / $208,3 \pm 1,9$), TNF- α ($194,1 \pm 1,9$ / $197,1 \pm 5,8$) e IFN- γ ($1182,1 \pm 1,9$ / $1182,3 \pm 2,3$), para enfermaria e UTI, respectivamente, não tenham apresentado diferenças estatísticas, observou-se que IFN- γ apresentou valores aumentados em relação às demais citocinas analisadas (Figura 4).

Figura 7. Perfil de citocinas produzidas no soro de pacientes com COVID-19 internados na Enfermaria e UTI do HC-UFPE. Valores superiores foram encontrados nas citocinas IL-2 e IL-17 para pacientes com necessidade de terapia intensiva (UTI). Os valores de p estão destacados no gráfico. Barras verticais representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.



A análise imunológica celular investigou as populações de linfócitos T $CD4^+$, T $CD8^+$ e B. Como já foi demonstrado que os pacientes de UTI apresentam uma linfopenia significativa (Figura 8), observou-se que de fato houve redução estatisticamente significativa no número total de linfócitos T ($CD3^+$), além dos outros subtipos linfocitários ($CD4^+$, $CD8^+$ e $CD19^+$), com valores estatísticos apenas para $CD4^+$ para os pacientes com a forma mais grave da COVID-19. A média da razão entre os linfócitos T $CD4^+/CD8^+$ para os pacientes de enfermaria e UTI foi cerca de 2/1 (65,1% / 33%; 57,3% / 27,4% para enfermaria e UTI, respectivamente).

Figura 8. Imunofenotipagem de linfócitos de pacientes com COVID-19. A média de cada gate (região) foi plotada como valores percentuais. Os valores do valor p estão destacados no gráfico. Valores representam a média $\pm$ desvio padrão de 85 amostras.



Além da patogênese causada pelo vírus SARS-CoV-2, as infecções bacterianas secundárias são consideradas fatores de risco críticos para as taxas de gravidade e

mortalidade da COVID-19 e foram observadas nos pacientes deste estudo. As principais áreas de coleta nos pacientes da Enfermaria foram hemocultura (45,16%) e urocultura (41,94%) e nos pacientes da UTI foram hemocultura (68,18%) e SWAB nasal (68,18%). Além disso, a positividade das amostras ocorreu em sua grande maioria para as diferentes áreas de coleta dos pacientes da UTI, exceto para o SWAB nasal. Esses resultados podem ser vistos Tabela 6.

Tabela 6: Locais de coleta de amostras para investigação microbiológica em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

Enfermaria (n = 63)				UTI (n = 22)			
Local de coleta		(%)	(%)		(%)	(%)	
Hemocultura	Não realizados	54,84		Não realizados	31,82		
	Realizados	45,16	(+) 21,43 (-) 78,57	Realizados	68,18	(+) 40,00 (-) 60,00	
Urocultura	Não realizados	58,06		Não realizados	36,36		
	Realizados	41,94	(+) 30,77 (-) 69,33	Realizados	63,64	(+) 42,86 (-) 57,14	
Secreção traqueal	Não realizados	87,1		Não realizados	63,64		
	Realizados	12,9	(+) 75,00 (-) 25,00	Realizados	36,36	(+) 87,50 (-) 12,50	
SWAB retal	Não realizados	69,35		Não realizados	45,45		
	Realizados	30,65	(+) 31,58 (-) 68,42	Realizados	55,55	(+) 33,33 (-) 66,67	
SWAB nasal	Não realizados	72,58		Não realizados	31,82		
	Realizados	27,42	(+) 47,06 (-) 52,94	Realizados	68,18	(+) 25,00 (-) 75,00	

Segundo as análises microbiológicas realizadas, houve uma diferenciação da espécie de microrganismo encontrada bem como da presença entre os pacientes de UTI e Enfermaria. Dados da Hemocultura mostram uma prevalência de *Staphylococcus epidermidis* tanto na Enfermaria (33,3%) quanto na UTI (50%), na urocultura observa-se a presença de *Escherichia coli* (66,6%) em pacientes de Enfermaria e *Enterococcus faecalis* (40%) nos de UTI e na secreção traqueal/pleural a prevalência é de *Klebsiella pneumoniae* tanto nos pacientes de Enfermaria (62,5%) quanto de UTI (25%). Os demais microrganismos encontrados estão descritos na Tabela 7.

Tabela 7. Isolados microbiológicos por área de coleta em pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE

Hemocultura (%)			
Enfermaria		UTI	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33,3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50
<i>Staphylococcus capitis</i>	33,3	<i>Pseudomonas Putida</i>	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33,3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20
Urocultura (%)			
Enfermaria		UTI	
<i>Escherichia coli</i>	66,6	<i>Enterococcus faecalis</i>	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22,2	<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	20
<i>Enterococcus faecalis</i>	11,1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
Secreção traqueal/pleural (%)			
Enfermaria		UTI	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62,5	<i>Enterococcus faecalis</i>	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25,0	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
<i>Proteus mirabili</i>	12,5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	12,5
		<i>Achromobacter spp.</i>	12,5
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	12,5
		<i>Staphylococcus hominis</i>	12,5
SWAB nasal (%)			
Enfermaria		UTI	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	37,5	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	33,3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25,0	<i>Staphylococcus hominis</i>	33,3
<i>Acinetobacter baumannii</i>	12,5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	33,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12,5		
<i>Staphylococcus hominis</i>	12,5		
SWAB retal (%)			
Enfermaria		UTI	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	27,3	<i>Staphylococcus maltophilia</i>	50
<i>Staphylococcus maltophilia</i>	27,3	<i>Acinetobacter baumannii</i>	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27,3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
<i>Enterobacter cloacae</i>	9,09		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9,09		

A investigação do perfil de resistência e sensibilidade microbiano (antibiograma) a diferentes fármacos apresentou alterações expressivas a depender do local de coleta, ou seja, do tipo de amostra analisada. Os microrganismos isolados da hemocultura apresentaram total resistência a fármacos como Ampicilina-Sulbactam e Estreptomicina. Já na urocultura a resistência prevalente foi a Ampicilina-Sulbactam. Na Secreção Traqueal/Pleural também houve destaque para a Eritromicina, seguida de Oxaciclina e Rifampicina. Ceftriaxoma, Imipenem e Meropenem foram os fármacos menos eficazes para os SWABS nasais e retais. Todos os resultados, podem ser observados nas Tabelas 8 e 9.

Tabela 8: Perfil de resistência e sensibilidade aos antimicrobianos testada em amostras de hemocultura, Urocultura e Secreção Traqueal positivos de pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE.

Fármacos	Hemocultura		Fármacos	Urocultura		Fármacos	Secreção Traqueal/Pleural	
	Resistência (%)	Sensibilidade (%)		Resistência (%)	Sensibilidade (%)		Resistência (%)	Sensibilidade (%)
Ampicilina-Sulbactam	100	0	Ampicilina-Sulbactam	100	0	Clindamicina	100	0
Cefepima			Ertapenem	88,89	11,11	Eritromicina		
Cefoxitina			Levofloxacina	83,33	16,67	Oxaciclina		
Ceftriaxoma			Trimetoprim	83,33	16,67	Rifampicina		
Cefuroxima			Cefepima	81,82	18,18	Teicoplanina		
Cefuroxima axeril			Ceftriaxoma	77,78	22,22	Cefuroxima		
Eritromicina			Ciprofloxacina	76,92	23,08	Cefuroxima axeril	85,71	14,29
Levofloxacina			Cefuroxima	75	25	Ampicilina	83,33	16,67
Oxaciclina			Cefuroxima axeril			Meropenem		
Penicilina G			Ampicilina	72,73	27,27	Ceftriaxoma	77,78	22,22
Piperaciclina	83,33	16,67	Ceftazidima	71,43	28,57	Cefepima	76,92	23,08
Clindamicina			Piperaciclina	66,67	33,33	Imipenem		
Amicacina			Cefoxitina	50	50	Cefoxitina	75,00	25,00
Ertapenem			Estreptomicina-SIM			Ciprofloxacina	71,43	28,57
Ciprofloxacina			Gentamicina-SIM	37,50	62,50	Ertapenem	70	30
Trimetoprim			Imipenem			Tigeciclina	66,67	33,33
Ampicilina			Gentamicina			Ceftazidima	61,54	38,46
Ceftazidima			Meropenem	11,11	88,89	Piperaciclina	60	40
Rifampicina			Tigeciclina			Penicilina G	50	50
Teicoplanina			Amicacina	9,09	90,97	Gentamicina	42,86	57,14
Gentamicina	40,00	60,00	Colistina	0	100	Levofloxacina		

Cloranfenicol			Daptomicina		Amicacina	38,46	61,54
Imipenem			Linezolid		Colistina	37,50	62,50
Meropenem	25	75	Penicilina G		Ampicilina-Sulbactam	33,33	66,67
Tigeciclina			Teicoplanina		Trimetoprim	25	75
Colistina			Vancomicina		Cloranfenicol		
Daptomicina					Daptomicina		
Estreptomicina-SIM					Estreptomicina-SIM		
Gentamicina-SIM	0	100			Gentamicina-SIM	0	100
Linezolid					Linezolid		
Minociclin					Minociclin		
Vancomicina					Vancomicina		

Tabela 9: Perfil de resistência aos antimicrobianos testados em amostras de SWAB reta e nasal positivas de pacientes com COVID-19 de enfermaria e UTI internados no HC-UFPE.

Fármacos	SWAB retal		Fármacos	SWAB nasal	
	Resistência (%)	Sensibilidade (%)		Resistência (%)	Sensibilidade (%)
Cefoxitina	100	0	Ampicilina	100	0
Clindamicina			Ceftriaxoma		
Ceftriaxoma			Eritromicina		
Ertapenem			Ertapenem		
Imipenem			Oxaciclina		
Meropenem			Penicilina G		
Oxaciclina			Piperaciclina		
Ampicilina	75	25	Ciprofloxacina	88,89	11,11
Cefepima			Clindamicina	80	20
Ciprofloxacina	72,73	27,27	Levofloxacina		
Amicacina	71,43	28,57	Cefepima	75	25
Ampicilina-Sulbactam	66,67	33,33	Ceftazidima		
Ceftazidima	63,64	36,36	Imipenem		
Piperaciclina	57,14	42,86	Meropenem		
Gentamicina	50	50	Ampicilina-Sulbactam		
Trimetoprim			Cloranfenicol	66,77	33,33
Tigeciclina	25	75	Rifampicina		
Colistina			Trimetoprim	62,50	37,50
Daptomicina	0	100	Gentamicina		
Linezolid			Teicoplanina	20	80
Rifampicina			Tigeciclina		
Teicoplanina			Daptomicina	16,67	83,33
Vancomicina			Linezolid		
			Colistina	0	100
			Estreptomicina-SIM		
			Gentamicina-SIM		
			Minociclin		
			Vancomicina		

6. DISCUSSÃO

Este estudo visou compreender os aspectos clínicos, laboratoriais, imunológicos e microbiológicos de pacientes com COVID-19 internados na Enfermaria e na UTI do Hospital das Clínicas da UFPE. Em relação as ocorrências clínicas, os dados de maior gravidade são frequentemente observados nos pacientes da UTI, uma vez que a maioria deles já apresentavam comorbidades e outras complicações clínicas.

Clinicamente, os sintomas mais prevalentes dos pacientes, como febre, falta de ar ou dispneia, dor de cabeça, dor de garganta e tosse foram equivalentes aos observados em outros estudos (LOVATO e FILIPPIS, 2020; ZHU et al., 2020). Bem como, as comorbidades mais prevalentes, as quais eram agravantes para os pacientes de UTI, foram hipertensão arterial, diabetes e obesidade (ABOHAMR et al., 2020).

Alguns estudos têm demonstrado uma redução significativa dos níveis de hemoglobina e hematócrito, especialmente para os desfechos graves da doença (Huang et al., 2020; LIPPI et al., 2020). Em consonância com os resultados deste estudo, os achados de Djakpo et al. (2020) apontam que cerca de 208 pacientes com COVID-19 apresentaram hematócrito reduzido (37,4%) e número de hemácias ligeiramente diminuído (3,19 milhões/ μ L). Essas alterações eritrocitárias podem estar correlacionadas a impossibilidade de a medula óssea produzir hemácias suficientes devido a hiperinflamação provocada pela COVID-19, bem como a redução da saturação de oxigênio, os quais estão diretamente associados com os desfechos graves da doença (ALGASSIM et al., 2020).

Para os quadros mais graves da COVID-19, espera-se leucocitose, associada a neutrofilia, e quadro transitório de linfopenia (SUN et al., 2020; BRONDANI et al., 2020; LEVI et al., 2020). Além disso, alguns marcadores bioquímicos apontam o elevado perfil inflamatório que esses pacientes apresentam (GHAZANFARI et al., 2021; MAHROUM et al., 2022; SMILOWITZ et al., 2021). Assim como nossos resultados, LI et al. (2020ab), demonstraram aumento de neutrófilos, DHL, PCR e fibrinogênio nos pacientes considerados graves em relação aos demais. A linfopenia, citada anteriormente, ocorre devido a migração dos linfócitos, especialmente os citotóxicos, para os tecidos mucoides para combater a infecção viral (BLOMME et al., 2020).

Os resultados obtidos neste estudo pela imunofenotipagem demonstraram também uma queda nos números de linfócitos T $CD3^+$ e $CD4^+$ no sangue periférico de pacientes de UTI, achados também demonstrados nos estudos de Kang et al. (2020) e Kalfaoglu et al. (2021). Além disso, o status inflamatório dos pacientes deste estudo também foi evidenciado pela prevalência das interleucinas IFN- γ , IL-2 e IL17, sendo mais observadas nos pacientes da UTI. É possível que a produção significativa de IL-2 seja uma resposta imunológica frente a linfopenia. O estudo realizado por Zhang et al., (2020) evidencia a potencial função protetora da sinalização de IL-2, no atraso do início da linfopenia em pacientes com COVID-19, e demonstra que a IL-17 e outras citocinas inflamatórias estão relacionadas com os desfechos graves da COVID-19 e podem auxiliar no

desencadeamento da tempestade de citocinas (PARACKOVA et al., 2020, XU et al., 2020; PACHA et al., 2020; HUANG et al., 2020).

O atual entendimento do papel imunológico de citocinas inflamatórias, linfócitos e neutrófilos na COVID-19 grave é de que esses mediadores imunológicos induzem a lesão tecidual tanto no epitélio de revestimento pulmonar e gastrointestinal, como nos rins facilitando a proliferação de microrganismos oportunistas (especialmente bactérias) e falência de órgãos (GANJI et al., 2020; BRONDANI et al., 2020; LEVI et al., 2020). Além disso, segundo Poggiali et al. (2020), a super regulação da proteína C-reativa e DHL podem estar relacionadas à redução da função respiratória nesses pacientes. Já o fibrinogênio, é um mediador que favorece o aumento da hipercoagulação sanguínea e formação de fibrina, induzindo um potencial risco de trombose (CONNORS e LEVY, 2020; IBA et al., 2020).

O grau de lesão pulmonar (leve, moderado ou grave) está associado a todo o dano provocado no epitélio de revestimento conforme descrito anteriormente. Embora tenha havido um certo comprometimento pulmonar nos pacientes de Enfermaria, os exames de imagem por Tomografia Computadorizada (TC) apresentaram um comprometimento pulmonar bilateral nos pacientes de UTI com opacidades em vidro fosco, consolidações e espessamento de septos interlobulares. Guan et al. (2020), investigando 1.099 pacientes, também observaram que 74% destes apresentavam anormalidades nas TC de pulmão, sendo as opacidades em vidro fosco mais prevalentes (50%) que outros achados. Os mesmos achados foram demonstrados por Wu et al (2020) e Rodriguez-Morales et al (2020). Esses comprometimentos nos lobos pulmonares, impactam diretamente na função respiratória e desencadeiam a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG), como também foi observado nos pacientes da UTI deste estudo (ARONS et al., 2020; CHAN et al., 2020; KONG e AGARWAL, 2020; POLIDORO et al., 2020).

Os medicamentos atualmente utilizados no manejo da COVID-19, além de não serem direcionados ao combate ao vírus SARS-CoV-2, podem promover outras complicações, como as ações hepatotóxicas e nefrotóxicas de alguns corticoides e antimicrobianos (MOUSAVI et al., 2021; ORTIZ et al., 2021; FENG et al., 2020). Como alguns pacientes deste estudo já possuíam comorbidades como diabetes, hipertensão, hepatopatia crônica e lesão renal aguda/crônica, é possível que os efeitos colaterais desses fármacos tenham sido potencializados, induzindo o desenvolvimento das formas graves dessas doenças pré-existentes. Este raciocínio está associado a análise observacional de algumas complicações trombóticas, coagulativas e nefrotóxicas (com início de terapia

renal substitutiva) que os pacientes, especialmente de UTI, passaram a apresentar pós-fase aguda da COVID-19.

Os fatores de risco para infecções bacterianas em pacientes com COVID-19 têm sido associados principalmente a pacientes com hospitalização prolongada expostos a dispositivos invasivos, como cateteres e traqueóstomos (SHARIFIPOUR et al., 2020; ERDEM et al., 2021). Os resultados deste estudo apontam para uma diversificação de espécies patogênicas a depender do ponto de coleta no paciente, com prevalência para *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. Em consonância com estes achados, Fattorini et al. (2020) e Dumitru et al. (2021) também demonstraram que os microrganismos mais frequentemente identificados em pacientes com COVID-19 e que possuem um alto perfil de resistência são *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*. As infecções por estes agentes patogênicos contribuem para um prognóstico ruim para os pacientes internados e são capazes de complicar seriamente o curso da COVID-19, uma vez que quadros de septicemia (associadas à microrganismos extremamente resistentes) vem sendo relatadas em pacientes com a doença severa (HOQUE et al., 2021; HOSODA et al., 2021; ERDEM et al., 2021).

Estudos internacionais demonstram que o uso indiscriminado de antibióticos como ceftriaxona, doxiciclina e azitromicina para o tratamento da COVID-19, mesmo na ausência de sinais óbvios de infecções bacterianas, aumentam implicitamente a taxa de resistência das bactérias (DUMITRU et al., 2021; RUIZ, 2021; SHARIFIPOUR et al., 2020). Neste caso, infere-se que é necessário ter um cuidado maior na clínica médica quanto a escolha preponderante a fármacos resistentes a betalactamases e de amplo espectro, como é o caso de carbapenêmicos como o imipenem e o meropenem, além de cefalosporinas de terceira e quarta geração (LAI et al., 2021; BAHÇE; ACER; ÖZÜDOĞRU, 2022).

As principais comorbidades encontradas neste estudo, obesidade e hipertensão, são fatores predisponentes ao agravo da COVID-19. Estudos demonstram que indivíduos obesos possuem um acúmulo de tecido adiposo visceral que estimula a produção de interleucinas pró-inflamatórias como TNF- α e IL-6 (além de reduzir a ação de todas as citocinas anti-inflamatórias) pela via NF κ B, aumento da proteína C-reativa (PCR) e promove ainda a resistência à insulina, aterosclerose, doença hepática e alguns tipos de câncer (REILLY e SALTIEL, 2017; NIMPTSCH et al., 2019; BARAKAT e ALMEIDA, 2021; ZIELIŃSKA et al., 2019). A patogênese da hipertensão arterial também está

alicerçada em um microambiente pró-inflamatório (IDRIS-KHODJA et al., 2014). Estudos demonstram que os linfócitos T são mediadores da hipertensão arterial, uma vez que os linfócitos T CD8⁺ e os linfócitos T CD4⁺Th1⁺ estão acumulados na parede dos vasos sanguíneos (induzindo o aumento da liberação de citocinas, produção de espécies reativas de oxigênio (EROs) e ativação de Moléculas de Adesão Intercelular - ICAMs) e nos túbulos renais (causando super regulação do co-transportador de sódio renal e influenciando a reabsorção de água pelos rins) de indivíduos hipertensos (DRUMMOND et al., 2019; AGITA e THAHA, 2017; LIU et al., 2017). Nesse sentido, é preciso que se faça a inferência de que a diminuição da contagem das sublinhagens linfocitárias observada neste estudo, bem como aumento da circulação de citocinas pró-inflamatórias, podem estar correlacionados a estas doenças pré-existent, potencializados, evidentemente, pela hiperinflamação causada pela patogênese da COVID-19. Partindo-se deste princípio, sugere-se que o controle da glicose, lipídeos e pressão sanguínea no atendimento inicial do paciente de COVID-19, parece ser essencial para a prevenção do agravamento da doença.

7. CONCLUSÃO

Exames laboratoriais na COVID-19, são importantes ferramentas no diagnóstico da condição clínica do paciente. A interrelação entre dados hematológicos, bioquímicos e imunológicos, pode ser um fator preditivo da conduta médica e permanência do paciente na enfermaria ou UTI. Além disso, o longo tempo de internamento dos enfermos na UTI associado ao uso de dispositivos invasivos, também são fatores predisponentes para o favorecimento das coinfeções nosocomiais e uso excessivo de antibioticoterapia. Por fim, investigar e controlar as condições pré-clínicas, ou seja, possíveis comorbidades, parece ser essencial na prevenção do agravamento da doença.

REFERÊNCIAS

(JHU), Johns Hopkins University. **COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU)**. 2022. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Acesso em: 19 fev. 2022.

ABOHAMR, Samah I. et al. Clinical characteristics and in-hospital mortality of COVID-19 adult patients in Saudi Arabia. **Saudi medical journal**, v. 41, n. 11, p. 1217, 2020.7

ACKERMANN, Maximilian et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 2, p. 120-128, 2020.

ADAMS, Hugo JA et al. Chest CT imaging signature of coronavirus disease 2019 infection: in pursuit of the scientific evidence. **Chest**, v. 158, n. 5, p. 1885-1895, 2020.

AGITA, Arisya; THAHA, Mochammad. Inflammation, immunity, and hypertension. **Acta Medica Indonesiana**, v. 49, n. 2, p. 158-165, 2017.

ALGASSIM, Abdulrahman A. et al. Prognostic significance of hemoglobin level and autoimmune hemolytic anemia in SARS-CoV-2 infection. **Annals of hematology**, v. 100, n. 1, p. 37-43, 2021.

ARONS, Melissa M. et al. Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 22, p. 2081-2090, 2020.

ARYA, Rimanshee et al. Structural insights into SARS-CoV-2 proteins. **Journal of molecular biology**, v. 433, n. 2, p. 166725, 2021.

ASTUTI, Indwiani et al. Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2): An overview of viral structure and host response. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 4, p. 407-412, 2020.

BAHÇE, Yasemin Genç; ACER, Ömer; ÖZÜDOĞRU, Osman. Evaluation of bacterial agents isolated from endotracheal aspirate cultures of Covid-19 general intensive care patients and their antibiotic resistance profiles compared to pre-pandemic conditions. **Microbial pathogenesis**, p. 105409, 2022.

BANGASH, Mansoor N.; PATEL, Jaimin; PAREKH, Dhruv. COVID-19 and the liver: little cause for concern. **The lancet. Gastroenterology & hepatology**, v. 5, n. 6, p. 529, 2020.

BARAKAT, Beatriz; ALMEIDA, Martha EF. Biochemical and immunological changes in obesity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 708, p. 108951, 2021.

BATAH, Sabrina Setembre; FABRO, Alexandre Todorovic. Pulmonary pathology of ARDS in COVID-19: a pathological review for clinicians. **Respiratory medicine**, v. 176, p. 106239, 2021.

BEYERSTEDT, Stephany; CASARO, Expedito Barbosa; RANGEL, Érika Bevilaqua. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 40, n. 5, p. 905-919, 2021.

BLANCO-MELO, Daniel et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. **Cell**, v. 181, n. 5, p. 1036-1045. e9, 2020.

BLOMME, S. et al. The influence of COVID-19 on routine hematological parameters of hospitalized patients. **Acta Clinica Belgica**, p. 1-6, 2020.

BRADLEY, Benjamin T. et al. Histopathology and ultrastructural findings of fatal COVID-19 infections in Washington State: a case series. **The Lancet**, v. 396, n. 10247, p. 320-332, 2020.

BRODIN, Petter. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. **Nature Medicine**, v. 27, n. 1, p. 28-33, 2021.

BRONDANI, Giovanni et al. Pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia. **The Lancet Rheumatology**, v. 2, n. 8, p. e458, 2020.

CASTALDI, Silvana et al. Hospital acquired infections in COVID-19 patients in sub intensive care unit. **Acta Bio Medica: Atenei Parmensis**, v. 91, n. 3, p. e2020017, 2020.

CAVALCANTE-SILVA, Luiz Henrique Agra et al. Neutrophils and COVID-19: The road so far. **International immunopharmacology**, v. 90, p. 107233, 2021.

CHAN, Jasper Fuk-Woo et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514-523, 2020.

CHANNAPPANAVAR, Rudragouda; PERLMAN, Stanley. Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology. In: **Seminars in immunopathology**. Springer Berlin Heidelberg, 2017. p. 529-539.

CHIAPPELLI, Francesco; KHAKSHOY, Allen; GREENBERG, Gillian. CoViD-19 immunopathology and immunotherapy. **Bioinformatics**, v. 16, n. 3, p. 219, 2020.

CHUA, Robert Lorenz et al. Cross-talk between the airway epithelium and activated immune cells defines severity in COVID-19. **MedRxiv**, 2020.

CLEVERLEY, Joanne; PIPER, James; JONES, Melvyn M. The role of chest radiography in confirming covid-19 pneumonia. **bmj**, v. 370, 2020.

CONNORS, Jean M.; LEVY, Jerrold H. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. **Blood**, v. 135, n. 23, p. 2033-2040, 2020.

DE SOUZA SILVA, Guilherme Antonio et al. SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 infections in pregnancy and fetal development. **Journal of gynecology obstetrics and human reproduction**, v. 49, n. 10, p. 101846, 2020.

DIAO, Bo et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Frontiers in immunology**, p. 827, 2020.

DJAKPO, Dodji Kossi et al. Blood routine test in mild and common 2019 coronavirus (COVID-19) patients. **Bioscience reports**, v. 40, n. 8, 2020.

DRUMMOND, Grant R. et al. Immune mechanisms of hypertension. **Nature Reviews Immunology**, v. 19, n. 8, p. 517-532, 2019.

DUMITRU, Irina Magdalena et al. Carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae associated with COVID-19. **Antibiotics**, v. 10, n. 5, p. 561, 2021.

ERDEM, Hakan et al. Managing adult patients with infectious diseases in emergency departments: international ID-IRI study. **Journal of Chemotherapy**, v. 33, n. 5, p. 302-318, 2021.

EYMIEUX, Sébastien et al. Ultrastructural modifications induced by SARS-CoV-2 in Vero cells: a kinetic analysis of viral factory formation, viral particle morphogenesis and virion release. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 78, n. 7, p. 3565-3576, 2021.

FATTORINI, Lanfranco et al. Bacterial coinfections in COVID-19: an underestimated adversary. **Annali dell'Istituto superiore di sanita**, v. 56, n. 3, p. 359-364, 2020.

FELSENSTEIN, Susanna et al. COVID-19: Immunology and treatment options. **Clinical immunology**, v. 215, p. 108448, 2020.

FENG, Yun et al. COVID-19 with different severities: a multicenter study of clinical features. **American journal of respiratory and critical care medicine**, v. 201, n. 11, p. 1380-1388, 2020.

FOX, Sharon E. et al. Pulmonary and cardiac pathology in African American patients with COVID-19: an autopsy series from New Orleans. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 7, p. 681-686, 2020.

GANJI, Ali et al. Increased expression of CD8 marker on T-cells in COVID-19 patients. **Blood Cells, Molecules, and Diseases**, v. 83, p. 102437, 2020.

GHAZANFARI, Tooba et al. Interpretation of hematological, biochemical, and immunological findings of COVID-19 disease: biomarkers associated with severity and mortality. **Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology**, v. 20, n. 1, p. 46-66, 2021.

GUAN, Wei-jie et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **New England journal of medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708-1720, 2020.

GUSTINE, Joshua N.; JONES, Dennis. Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19. **The American journal of pathology**, v. 191, n. 1, p. 4-17, 2021.

HAMMING, Inge et al. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland**, v. 203, n. 2, p. 631-637, 2004.

HARIYANTO, Timotius Ivan et al. Inflammatory and hematologic markers as predictors of severe outcomes in COVID-19 infection: a systematic review and meta-analysis. **The American journal of emergency medicine**, v. 41, p. 110-119, 2021.

HARRISON, Andrew G.; LIN, Tao; WANG, Penghua. Mechanisms of SARS-CoV-2 transmission and pathogenesis. **Trends in immunology**, v. 41, n. 12, p. 1100-1115, 2020.

HENRY, Brandon Michael; LIPPI, Giuseppe. Chronic kidney disease is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. **International urology and nephrology**, v. 52, n. 6, p. 1193-1194, 2020.

HIKMET, Fera et al. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. **Molecular systems biology**, v. 16, n. 7, p. e9610, 2020.

HIRAIWA, Kunihiro; VAN EEDEN, Stephan F. Nature and consequences of the systemic inflammatory response induced by lung inflammation. **Lung Inflammation**, v. 79, 2014.

HOFFMANN, Markus et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. **cell**, v. 181, n. 2, p. 271-280. e8, 2020.

HOQUE, M. Nazmul et al. Microbial co-infections in COVID-19: Associated microbiota and underlying mechanisms of pathogenesis. **Microbial pathogenesis**, v. 156, p. 104941, 2021.

HOSODA, Tomohiro et al. COVID-19 and fatal sepsis caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, Japan, 2020. **Emerging infectious diseases**, v. 27, n. 2, p. 556, 2021.

HU, B. et al. Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19 nature reviews microbiology. **Nat Res**, 2020.

HUANG, Chaolin et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

IBA, Toshiaki et al. The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 1-8, 2020.

IBARRONDO, F. Javier et al. Rapid decay of anti-SARS-CoV-2 antibodies in persons with mild Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 11, p. 1085-1087, 2020.

IDRIS-KHODJA, Nouredine et al. Dual opposing roles of adaptive immunity in hypertension. **European heart journal**, v. 35, n. 19, p. 1238-1244, 2014.

INFANTINO, Maria et al. Serological assays for SARS-CoV-2 infectious disease: benefits, limitations and perspectives. **Isr Med Assoc J**, v. 22, n. 4, p. 203-210, 2020.

ISLAM, Abul Bashar Mir Md et al. Lung transcriptome of a COVID-19 patient and systems biology predictions suggest impaired surfactant production which may be druggable by surfactant therapy. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 2020.

KALFAOGLU, Bahire et al. T-cell dysregulation in COVID-19. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 538, p. 204-210, 2021.

KANG, Chang Kyung et al. Aberrant hyperactivation of cytotoxic T-cell as a potential determinant of COVID-19 severity. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 97, p. 313-321, 2020.

KANNE, Jeffrey P. et al. COVID-19 imaging: what we know now and what remains unknown. **Radiology**, v. 299, n. 3, p. E262-E279, 2021.

KHANMOHAMMADI, Shaghayegh; REZAEI, Nima. Role of Toll-like receptors in the pathogenesis of COVID-19. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 5, p. 2735-2739, 2021.

KONEMAN, Elmer W.; ALLEN, Stephen. **Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas**. Ed. médica panamericana, 2008.

KONG, Weifang; AGARWAL, Prachi P. Chest imaging appearance of COVID-19 infection. **Radiology: Cardiothoracic Imaging**, v. 2, n. 1, p. e200028, 2020.

KOOISTRA, Emma J. et al. Dexamethasone and tocilizumab treatment considerably reduces the value of C-reactive protein and procalcitonin to detect secondary bacterial infections in COVID-19 patients. **Critical Care**, v. 25, n. 1, p. 1-12, 2021.

LAI, Chih-Cheng et al. Increased antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. **International journal of antimicrobial agents**, v. 57, n. 4, p. 106324, 2021.

LAM, Tommy Tsan-Yuk et al. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. **Nature**, v. 583, n. 7815, p. 282-285, 2020.

LANGFORD, Bradley J. et al. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. **Clinical microbiology and infection**, v. 26, n. 12, p. 1622-1629, 2020.

LANSBURY, Louise et al. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **Journal of Infection**, v. 81, n. 2, p. 266-275, 2020.

LETKO, Michael; MARZI, Andrea; MUNSTER, Vincent. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. **Nature microbiology**, v. 5, n. 4, p. 562-569, 2020.

LEVI, Marcel; HUNT, Beverley J. Thrombosis and coagulopathy in COVID-19: an illustrated review. **Research and practice in thrombosis and haemostasis**, v. 4, n. 5, p. 744-751, 2020.

LI, Geng et al. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 4, p. 424-432, 2020b.

LI, Jie et al. Etiology and antimicrobial resistance of secondary bacterial infections in patients hospitalized with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective analysis. **Antimicrobial Resistance & Infection Control**, v. 9, n. 1, p. 1-7, 2020c.

LI, Xiaowei et al. Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. **Journal of pharmaceutical analysis**, v. 10, n. 2, p. 102-108, 2020a.

LIAO, Mingfeng et al. Single-cell landscape of bronchoalveolar immune cells in patients with COVID-19. **Nature medicine**, v. 26, n. 6, p. 842-844, 2020.

LIPPI, Giuseppe; MATTIUZZI, Camilla. Hemoglobin value may be decreased in patients with severe coronavirus disease 2019. **Hematology, transfusion and cell therapy**, v. 42, p. 116-117, 2020.

LIU, Jia et al. Overlapping and discrete aspects of the pathology and pathogenesis of the emerging human pathogenic coronaviruses SARS-CoV, MERS-CoV, and 2019-nCoV. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 5, p. 491-494, 2020a.

LIU, Jia et al. SARS-CoV-2 cell tropism and multiorgan infection. **Cell discovery**, v. 7, n. 1, p. 1-4, 2021.

LIU, Lihong et al. Potent neutralizing antibodies against multiple epitopes on SARS-CoV-2 spike. **Nature**, v. 584, n. 7821, p. 450-456, 2020b.

LIU, Yunmeng et al. CD8⁺ T cells stimulate Na-Cl co-transporter NCC in distal convoluted tubules leading to salt-sensitive hypertension. **Nature communications**, v. 8, n. 1, p. 1-14, 2017.

LONG, Quan-Xin et al. Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. **Nature medicine**, v. 26, n. 8, p. 1200-1204, 2020.

LOTFINEJAD, Parisa et al. COVID-19 infection: concise review based on the immunological perspective. **Immunological Investigations**, p. 1-20, 2020.

LOVATO, Andrea; DE FILIPPIS, Cosimo. Clinical presentation of COVID-19: a systematic review focusing on upper airway symptoms. **Ear, Nose & Throat Journal**, v. 99, n. 9, p. 569-576, 2020.

MAHMOUDI, Shima et al. Immunologic features in coronavirus disease 2019: functional exhaustion of T cells and cytokine storm. **Journal of clinical immunology**, v. 40, n. 7, p. 974-976, 2020.

MAHROUM, Naim et al. Ferritin—from iron, through inflammation and autoimmunity, to COVID-19. **Journal of autoimmunity**, v. 126, p. 10

MCGONAGLE, Dennis et al. The role of cytokines including interleukin-6 in COVID-19 induced pneumonia and macrophage activation syndrome-like disease. **Autoimmunity reviews**, v. 19, n. 6, p. 102537, 2020.

MELO, Cristiane ML DE et al. COVID-19 pandemic outbreak: the Brazilian reality from the first case to the collapse of health services. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 92, 2020.

MEYEROWITZ, Eric A. et al. Transmission of SARS-CoV-2: a review of viral, host, and environmental factors. **Annals of internal medicine**, v. 174, n. 1, p. 69-79, 2021.

MIDDLETON, Elizabeth A. et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. **Blood**, v. 136, n. 10, p. 1169-1179, 2020.

MOUSAVI MOVAHED, Seyed Majid et al. Different incidences of acute kidney injury (AKI) and outcomes in COVID-19 patients with and without non-azithromycin antibiotics: A retrospective study. **Journal of medical virology**, v. 93, n. 7, p. 4411-4419, 2021.

MUSUUZA, Jackson S. et al. Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: a systematic review and meta-analysis. **PloS one**, v. 16, n. 5, p. e0251170, 2021.

NG, Ming-Yen et al. Imaging profile of the COVID-19 infection: radiologic findings and literature review. **Radiology: Cardiothoracic Imaging**, v. 2, n. 1, p. e200034, 2020.

NILE, Shivraj Hariram et al. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. **Cytokine & growth factor reviews**, v. 53, p. 66-70, 2020.

NIMPTSCH, Katharina; KONIGORSKI, Stefan; PISCHON, Tobias. Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. **Metabolism**, v. 92, p. 61-70, 2019.

ORTIZ, Miguel E. et al. Heterogeneous expression of the SARS-Coronavirus-2 receptor ACE2 in the human respiratory tract. **EBioMedicine**, v. 60, p. 102976, 2020.

PACHA, Omar; SALLMAN, Mary Alice; EVANS, Scott E. COVID-19: a case for inhibiting IL-17?. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 6, p. 345-346, 2020.

PARACKOVA, Zuzana et al. Disharmonic inflammatory signatures in COVID-19: augmented neutrophils' but impaired monocytes' and dendritic cells' responsiveness. **Cells**, v. 9, n. 10, p. 2206, 2020.

PERROTTA, Fabio et al. Severe respiratory SARS-CoV2 infection: Does ACE2 receptor matter?. **Respiratory medicine**, v. 168, p. 105996, 2020.

POGGIALI, Erika et al. Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in CoVID-19 patients. **Clinica chimica acta**, v. 509, p. 135-138, 2020.

POLIDORO, Rafael B. et al. Overview: systemic inflammatory response derived from lung injury caused by SARS-CoV-2 infection explains severe outcomes in COVID-19. **Frontiers in immunology**, p. 1626, 2020.

PONTONE, Gianluca et al. Role of computed tomography in COVID-19. **Journal of cardiovascular computed tomography**, v. 15, n. 1, p. 27-36, 2021.

PROMPETCHARA, Eakachai; KETLOY, Chutitorn; PALAGA, Tanapat. Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic. **Asian Pacific journal of allergy and immunology**, v. 38, n. 1, p. 1-9, 2020.

RAHI, Mandeep Singh et al. Hematologic disorders associated with COVID-19: a review. **Annals of hematology**, v. 100, n. 2, p. 309-320, 2021.

RAHMAN, Sayeeda et al. Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence. **Expert review of clinical pharmacology**, v. 14, n. 5, p. 601-621, 2021.

RANUCCI, Marco et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 7, p. 1747-1751, 2020.

REILLY, Shannon M.; SALTIEL, Alan R. Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 13, n. 11, p. 633-643, 2017.

REVZIN, Margarita V. et al. Multisystem imaging manifestations of COVID-19, part 1: viral pathogenesis and pulmonary and vascular system complications. **Radiographics**, v. 40, n. 6, p. 1574-1599, 2020.

RODRIGUEZ-MORALES, Alfonso J. et al. Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **Travel medicine and infectious disease**, v. 34, p. 101623, 2020.

ROKNI, Mohsen; GHASEMI, Vida; TAVAKOLI, Zahra. Immune responses and pathogenesis of SARS-CoV-2 during an outbreak in Iran: comparison with SARS and MERS. **Reviews in medical virology**, v. 30, n. 3, p. e2107, 2020.

RUIZ, J. Enhanced antibiotic resistance as a collateral COVID-19 pandemic effect?. **Journal of Hospital Infection**, v. 107, p. 114-115, 2021.

SEKINE, Takuya et al. Robust T cell immunity in convalescent individuals with asymptomatic or mild COVID-19. **Cell**, v. 183, n. 1, p. 158-168. e14, 2020.

SENOK, Abiola et al. Coinfections in patients hospitalized with COVID-19: a descriptive study from the United Arab Emirates. **Infection and drug resistance**, v. 14, p. 2289, 2021.

SHARIFIPOUR, Ehsan et al. Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU. **BMC infectious diseases**, v. 20, n. 1, p. 1-7, 2020.

SHARMA, Anshika; AHMAD FAROUK, Isra; LAL, Sunil Kumar. COVID-19: A review on the novel coronavirus disease evolution, transmission, detection, control and prevention. **Viruses**, v. 13, n. 2, p. 202, 2021a.

SHARMA, Deepak et al. COVID-19: Finally on wane, with reduced lethality. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, 2021b.

SIDDELL, S. G. et al. Coronaviridae. **Intervirology**, v. 20, n. 4, p. 181-189, 1983.

SILVA, G. A. D. S., et al. COVID-19: From viral infection to pulmonary failure. **J Clin Images Med Case Rep**, v. 2, n. 2, p. 1064, 2021.

SINGH, Manvendra; BANSAL, Vikas; FESCHOTTE, Cédric. A single-cell RNA expression map of human coronavirus entry factors. **Cell reports**, v. 32, n. 12, p. 108175, 2020.

SKENDROS, Panagiotis et al. Complement and tissue factor–enriched neutrophil extracellular traps are key drivers in COVID-19 immunothrombosis. **The Journal of clinical investigation**, v. 130, n. 11, p. 6151-6157, 2020.

SMILOWITZ, Nathaniel R. et al. C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. **European heart journal**, v. 42, n. 23, p. 2270-2279, 2021.

SRIDHAR, Siddharth; NICHOLLS, John. Pathophysiology of infection with SARS-CoV-2—What is known and what remains a mystery. **Respirology**, v. 26, n. 7, p. 652-665, 2021.

SUN, Suyu et al. Abnormalities of peripheral blood system in patients with COVID-19 in Wenzhou, China. **Clinica chimica acta**, v. 507, p. 174-180, 2020.

TAGHIZADEH-HESARY, Farzad; AKBARI, Hassan. The powerful immune system against powerful COVID-19: A hypothesis. **Medical hypotheses**, v. 140, p. 109762, 2020.

TIAN, Yuan et al. Single-cell immunology of SARS-CoV-2 infection. **Nature biotechnology**, p. 1-12, 2021.

TOLOUIAN, Ramin et al. COVID-19 interactions with angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) and the kinin system; looking at a potential treatment. **Journal of Renal Injury Prevention**, v. 9, n. 2, p. e19-e19, 2020.

V'KOVSKI, Philip et al. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 155-170, 2021.

WANG, Pengfei et al. Antibody resistance of SARS-CoV-2 variants B. 1.351 and B. 1.1. 7. **Nature**, v. 593, n. 7857, p. 130-135, 2021.

WU, Jiong et al. Chest CT findings in patients with coronavirus disease 2019 and its relationship with clinical features. **Investigative radiology**, v. 55, n. 5, p. 257, 2020.

WHO. COVID-19 Weekly Epidemiological Update 48 [Internet]. World Health Organization. 2021. p. 1–16. Disponível em: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19-13-january-2022>

XIONG, Yong et al. Transcriptomic characteristics of bronchoalveolar lavage fluid and peripheral blood mononuclear cells in COVID-19 patients. **Emerging microbes & infections**, v. 9, n. 1, p. 761-770, 2020.

XU, Zhe et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet respiratory medicine**, v. 8, n. 4, p. 420-422, 2020.

YAZDANPANA, Fereshteh; HAMBLIN, Michael R.; REZAEI, Nima. The immune system and COVID-19: Friend or foe?. **Life sciences**, v. 256, p. 117900, 2020.

ZHANG, Yaguang et al. Potential contribution of increased soluble IL-2R to lymphopenia in COVID-19 patients. **Cellular & molecular immunology**, v. 17, n. 8, p. 878-880, 2020.

ZHENG, Hong-Yi et al. Elevated exhaustion levels and reduced functional diversity of T cells in peripheral blood may predict severe progression in COVID-19 patients. **Cellular & molecular immunology**, v. 17, n. 5, p. 541-543, 2020.

ZHOU, Fei et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **The lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020b.

ZHOU, Yonggang et al. Pathogenic T-cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storms in severe COVID-19 patients. **National Science Review**, v. 7, n. 6, p. 998-1002, 2020a.

ZHU, Na et al. Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. **Nature communications**, v. 11, n. 1, p. 1-8, 2020.

ZIELIŃSKA, Anna et al. The role of adipose tissue in the pathogenesis of Crohn's disease. **Pharmacological Reports**, v. 71, n. 1, p. 105-111, 2019.

ZOU, Xin et al. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Frontiers of medicine**, v. 14, n. 2, p. 185-192, 2020.

ANEXO A – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA

CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Investigação e mapeamento imunológico de pacientes infectados com o vírus SARS-CoV 2 (COVID-19)

Pesquisador: Cristiane Moutinho Lagos de Melo

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 30332120.8.3001.5191

Instituição Proponente: Universidade de Pernambuco

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.206.047

Apresentação do Projeto:

Trata-se de resposta da CONEP de Emenda ao projeto original para a inclusão de mais um local para coleta de dados, solicitando a inserção do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco como Instituição Coparticipante da Pesquisa. No referido Hospital serão realizadas as coletas sanguíneas dos pacientes acometidos pela COVID-19.

As informações contidas nos campos Apresentação do Projeto, Objetivo da Pesquisa e Avaliação dos Riscos e Benefícios foram retiradas do arquivo Pareceres, a partir das informações inseridas pelo Pesquisador Responsável do estudo na Plataforma Brasil em 31/07/2020.

RESUMO

Até o momento, os achados e investigações imunológicas a respeito da COVID-19 ainda são muito preliminares para tirar conclusões necessárias para o desenvolvimento de medicamentos e possíveis métodos de tratamento contra o SARS-CoV 2. Dos achados relacionados com a doença, estudos demonstraram um aumento no total de neutrófilos (38%), reduzindo o total de linfócitos (35%), um aumento da IL-6 sérica (52%) e um aumento da proteína c - reativa (84%), dos 99 pacientes analisados (Zhou et al., 2020). Esses resultados são ratificados por Tan et al. (2020) e Huang et al. (2020), onde foi possível observar que os pacientes que necessitaram de terapia intensiva devido a doença, apresentaram o aumento de citocinas como IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP -1A e TNF α . Alguns estudos identificaram um quadro de leucopenia associada a

Endereço: Rua Visconde de Manguape, s/nº 1º andar
Bairro: Encruzilhada **CEP:** 52.090-010
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)3162-7738 **Fax:** (81)3162-7738 **E-mail:** cep.cbam@upe.br

**CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.**



Continuação do Parecer: 4.206.047

alguns pacientes infectados com SARS-CoV 2 (Li et al., 2020). Nesse sentido, este estudo se propõe a fazer um mapeamento imunológico em pacientes infectados, a fim de contribuir com a comunidade científica, que busca incessantemente por alternativas de possíveis marcadores imunológicos para o diagnóstico e tratamento da doença, que possam contribuir para a sobrevivência dos infectados mesmo nos casos mais graves, além no desenvolvimento de vacinas para a imunização da população mundial, visto que a pandemia está tomando proporções preocupantes, na saúde e refletindo consequentemente na economia dos países atingidos pela doença. Além disso, visamos contribuir com mais informações a respeito do perfil imunológico da COVID-19, que será essencial para o desenvolvimento de ações como esta, que podem ser uma ferramenta eficaz e de fácil aplicabilidade nos Sistemas de Saúde do Brasil e do mundo.

HIPÓTESE

Fatores imunológicos são ferramentas de diagnóstico tanto para identificação da severidade da doença quanto para mapeamento de vigilância sanitária.

METODOLOGIA

Local do estudo e considerações éticas A pesquisa será realizada pela equipe do Laboratório de Análises Imunológicas e Antitumorais do Departamento de Antibióticos da UFPE em parceria com a demanda de ações do Laboratório Central do Estado de Pernambuco (LACEN-PE). A parceria faz parte dos esforços entre governo estadual, UFPE e IAM-FIOCRUZ, na busca pelo diagnóstico confirmatório dos casos em Pernambuco. Uma parte da genotipagem viral será realizada no Laboratório de Estudos Moleculares e Terapias Experimentais, do Departamento de Genética, UFPE e a parte imunológica será realizada por nossa equipe. É provável a utilização do NB3 tanto do Laboratório de Imunopatologia Keizo Assami – LIKA (o qual precisará passar por adequações), quanto do próprio LACEN, mas essas informações ainda não foram confirmadas. A logística de processamento das amostras ainda não está definida, mas em processo de planejamento junto à Secretaria Estadual de Saúde, o qual está prevista para o mês de abril. No entanto, a aprovação desse projeto se faz urgente devido à chamada do governo para o atendimento imediato dos casos no estado de Pernambuco.

4.2 Pacientes e análise amostral A população analisada será composta por pacientes que apresentarem sintomas da doença, e que forem recebidos e diagnosticados pelas equipes de diagnóstico associados ao Sistema Único de Saúde do Estado de Pernambuco. A quantidade de amostras será admitida por conveniência, conforme surjam pacientes infectados durante todo o período da pandemia. O diagnóstico da COVID-19 será realizado com base na avaliação clínica e

Endereço: Rua Visconde de Mamanguapé, s/nº 1º andar
Bairro: Encruzilhada **CEP:** 52.030-010
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)3182-7738 **Fax:** (81)3182-7738 **E-mail:** cep.cisam@upe.br

**CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.**



Continuação do Parecer: 4.206.047

nos resultados laboratoriais de identificação do genótipo viral e a análise imunológica será feita com a utilização do soro e das células presentes no sangue coletado dos pacientes infectados. 4.3 Critérios de inclusão e exclusão Serão incluídos nesse estudo todos os pacientes positivos para COVID-19. Os grupos de pacientes imunodeprimidos ou em tratamento de doenças que promovem baixa resposta imunológica, deverão ser tratados como um segundo grupo à parte.

4.4 Dosagem das Citocinas, Quimiocinas e Imunoglobulinas Os soros coletados segundo item 4.2, passarão por ensaio de dosagem de citocinas, quimiocinas e imunoglobulinas. A avaliação será realizada utilizando o kit de citocinas humanas Th1/Th2/Th17 (Becton Dickinson Biosciences) para a detecção simultânea das citocinas IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TNF- e IFN-; o kit de quimiocinas humanas (Becton Dickinson Biosciences) para a detecção simultânea das quimiocinas CCL5, CCL2, CXCL8, CXCL9 e CXCL10 e o kit de imunoglobulinas humanas (Becton Dickinson Biosciences) para a detecção simultânea das imunoglobulinas IgG, IgG2, IgG3, IgG4, IgM e IgA. A medição das proteínas imunológicas será baseada na tecnologia de Cytometric Bead Array (CBA), todos os dados serão adquiridos na plataforma FACSCalibur (Becton Dickinson Biosciences) e processados através do software Cell Quest Pro (Becton Dickinson Biosciences). 4.5 Contagem e ativação de linfócitos As células mononucleares do sangue periférico (PBMC) das amostras coletadas segundo item 4.2, passarão por ensaio de contagem e ativação de linfócitos. A avaliação será realizada através de imunofenotipagem para a detecção de linfócitos CD4, CD8, NK, CD14, FoxP3 e CD19 e avaliação das moléculas co-estimulatórias CD25, CD28, CD80, CD86 e CTLA-4.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Serão incluídos nesse estudo todos os pacientes positivos para COVID-19. Os grupos de pacientes imunodeprimidos ou em tratamento de doenças que promovem baixa resposta imunológica, deverão ser tratados como um segundo grupo à parte.

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Serão excluído do estudo pacientes negativos para COVID-19, mesmo que apresente outras síndromes respiratórias.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Investigar o perfil imunológicos de pacientes diagnosticados com COVID-19, pelo Sistema Único de Saúde de Pernambuco.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Endereço: Rua Visconde de Mamanguape, s/nº 1º andar
Bairro: Encruzilhada CEP: 52.030-010
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3182-7738 Fax: (81)3182-7738 E-mail: cep.cisam@upe.br

**CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.**



Continuação do Parecer: 4.356.047

- Traçar um perfil populacional dos pacientes envolvidos no estudo;
- Investigar o perfil de células (imunofenotipagem) e proteínas imunológicas (citocinas, quimiocinas, óxido nítrico e imunoglobulinas) produzidas no decorrer da manifestação da doença.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Ocorrerá coleta de até 9 ml de sangue periférico através de um tubo adaptado a uma agulha, estéril e descartável. Esse procedimento é praticamente isento de risco, pois todo material utilizado é descartável, porém, poderá causar dor ou mancha vermelha (hematoma). Caso ocorra qualquer desconforto ou promoção de hematoma local o sujeito da pesquisa receberá ajuda da equipe de coleta através de cuidados paliativos.

BENEFÍCIOS

O estudo poderá fornecer outras ferramentas de diagnóstico e também servirá de subsídio para a fabricação de imunobiológicos no tratamento e prevenção da doença. Além disso, a identificação de anticorpos de fase recente e tardia da doença servirão de meios estatísticos para a Vigilância sanitária compreender a fase da doença no estado de Pernambuco.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de Emenda:

Emenda 01:

Inserção do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco como Instituição Coparticipante da Pesquisa. No referido Hospital serão realizadas as coletas sanguíneas dos pacientes acometidos pela COVID-19.

INCLUSÃO DE CENTROS:

- Universidade de Pernambuco

Tereza Cartaxo

LISTA ATUALIZADA DE CENTROS:

- Hospital das Clínicas de Pernambuco

Evônio de Barros Campelo Júnior;

- Universidade de Pernambuco

Tereza Cartaxo.

Endereço: Rua Visconde de Manguape, s/nº 1º andar
 Bairro: Encruzilhada CEP: 52.030-010
 UF: PE Município: RECIFE
 Telefone: (81)3182-7738 Fax: (81)3182-7738 E-mail: cep.cisam@upe.br

**CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.**



Continuação do Parecer: 4.206.047

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Descreveram:

A carta de anuência da instituição foi anexada à documentação exigida.

Recomendações:

Não foram identificados óbices éticos nesta emenda.

Recomento anexar pareceres parcial e final a plataforma brasil

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do exposto, mediante observar protocolo completo e adequado e lero parecer da Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - CONEP, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, que manifestou-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa, considero solicitação de pesquisadores APROVADA.

Considerações Finais a critério do CEP:

Diante do exposto, mediante observar protocolo completo e adequado e ler o parecer da CONEP, que manifestou-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa, considero solicitação de pesquisadores APROVADA.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Outros	justificativa_de_emenda.pdf	28/07/2020 12:01:38	Cristiane Mouzinho Lagos de Melo	Aceite
Outros	Carta_anuencia_HC.pdf	24/07/2020 13:09:20	Cristiane Mouzinho Lagos de Melo	Aceite
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_COVID19_Cristiane_Mouzinho_ Evonio_HC.pdf	24/07/2020 13:07:37	Cristiane Mouzinho Lagos de Melo	Aceite
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_final_limpo.pdf	25/04/2020 20:01:16	Cristiane Mouzinho Lagos de Melo	Aceite
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_final.pdf	25/04/2020 20:01:07	Cristiane Mouzinho Lagos de Melo	Aceite
Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	25/04/2020	Cristiane Mouzinho	Aceite

Endereço: Rua Visconde de Manguape, s/nº 1º andar
Bairro: Encruzilhada CEP: 52.090-010
UF: PE Município: RECIFE
Telefone: (81)3182-7738 Fax: (81)3182-7738 E-mail: cep.cisam@upe.br

**CENTRO INTEGRADO DE
SAÚDE AMAURY DE
MEDEIROS - CISAM/UPE.**



Continuação do Parecer: 4.256.047

Outros	CARTA_RESPOSTA.docx	19:59:59	Lagos de Melo	Aceite
Outros	carta_de_anuencia.pdf	29/03/2020 17:26:42	Cristiane Moulinho Lagos de Melo	Aceite
Outros	Projeto_COVID19_termo_confidencialidade.pdf	29/03/2020 17:26:17	Cristiane Moulinho Lagos de Melo	Aceite

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

RECIFE, 11 de Agosto de 2020

**Assinado por:
Sandra Trindade Low
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Visconde de Mamanguape, s/nº 1º andar
Bairro: Encruzilhada **CEP:** 52.030-010
UF: PE **Município:** RECIFE
Telefone: (81)3182-7738 **Fax:** (81)3182-7738 **E-mail:** csp.cisam@upe.br

ANEXO B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (PARA MAIORES DE 18 ANOS OU EMANCIPADOS - Resolução 466/12)

Convidamos o (a) Sr. (a) para participar como voluntário (a) da pesquisa **Investigação e mapeamento imunológico de pacientes infectados com o vírus SARS-CoV-2 (COVID-19)**, que está sob a responsabilidade do (a) pesquisador (a) Profa. Dra. Cristiane Moutinho Lagos de Melo, Av. Prof. Moraes Rego, s/n.º - Cidade Universitária – Recife – PE – CEP 50.670.420, fone: 2126.8866, e-mail: cristianemout@gmail.com.

Caso este Termo de Consentimento contenha informações que não lhe sejam compreensíveis, as dúvidas podem ser tiradas com a pessoa que está lhe entrevistando e apenas ao final, quando todos os esclarecimentos forem dados, caso concorde com a realização do estudo pedimos que rubrique as folhas e assine ao final deste documento, que está em duas vias, uma via lhe será entregue e a outra ficará com o pesquisador responsável.

Caso não concorde, não haverá penalização, bem como será possível retirar o consentimento a qualquer momento, também sem nenhuma penalidade.

INFORMAÇÕES SOBRE A PESQUISA:

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa Investigação e mapeamento imunológico de pacientes infectados com o vírus SARS-CoV-2 (COVID-19), a qual pretende analisar o perfil de resposta de defesa do organismo que o vírus SARS-CoV-2, causador da doença COVID-19, promove. Sua participação é necessária, pois, como portador da doença, o seu sangue será utilizado como controle positivo. Sua participação é voluntária e se dará através da permissão de coleta de até 9 ml de sangue periférico através de um tubo adaptado a uma agulha, estéril e descartável. Esse procedimento é praticamente isento de risco, pois todo material utilizado é descartável, porém, poderá causar dor ou mancha vermelha (hematoma) . Caso ocorra qualquer desconforto ou promoção de hematoma local você receberá ajuda da equipe de coleta através de cuidados paliativos. O sangue será utilizado para a realização de identificação dos tipos de células sanguíneas que estão ativadas e das proteínas que ajudam na defesa do organismo, como os objetivos de: (i) verificar produção de citocinas, imunoglobulinas e quimiocinas (substâncias envolvidas no sistema de defesa contra doenças) e (ii) analisar a presença de marcadores de superfície celular (que identifica quais células são e se houve aumento ou diminuição da população de células). Todos os resultados dos marcadores sanguíneos serão comparados, com sua permissão, com o seu diagnóstico clínico constante em prontuário médico obtido junto ao hospital. Eventualmente, caso precisemos, iremos solicitar amostras de Swab suas e/ou nos bancos repositórios para identificação e investigação do tipo viral e confrontar com seus sinais clínicos para estudos de infectividade.

Todas as informações desta pesquisa serão confidenciais e serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas, não havendo identificação dos voluntários, a não ser entre os responsáveis pelo estudo, sendo assegurado o sigilo sobre a sua participação. As amostras sanguíneas coletadas nesta pesquisa serão processadas e ficarão armazenadas em freezer a -20°C, sob a responsabilidade do Profa. Dra. Cristiane Moutinho Lagos de Melo, no endereço acima informado pelo período de mínimo de 3 anos para investigações futuras. Nesse caso, para a utilização das amostras um novo projeto de pesquisa deverá ser aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do hospital (e, se for o caso, pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa, a CONEP) e você será contatado novamente para autorizar o novo uso, assinando um novo Termo de Consentimento Livre e Esclarecido A retirada do consentimento de guarda das suas amostras biológicas armazenadas em banco deverá ser realizada por escrito e assinada, podendo dar-se a qualquer tempo, sem prejuízo ao participante da pesquisa, com validade a partir da data da comunicação da decisão.

Nada lhe será pago e nem será cobrado para participar desta pesquisa, pois a aceitação é voluntária, mas fica também garantida a indenização em casos de danos, comprovadamente decorrentes da participação na pesquisa, conforme decisão judicial ou extra-judicial. Se houver necessidade, as despesas para a sua participação serão assumidas pelos pesquisadores (ressarcimento de transporte e alimentação). Em caso de dúvidas relacionadas aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da UFPE no endereço: (Avenida da Engenharia s/n – 1º Andar, sala 4 - Cidade Universitária, Recife-PE, CEP: 50740-600, Tel.: (81) 2126.8588 – e-mail: cepcps@ufpe.br). O referido comitê está apto para lhe esclarecer a função da pesquisa científica para o avanço da ciência e da confidencialidade de todos os seus dados. Além disso, o CEP/CONEP são corresponsáveis por garantir a proteção dos participantes de pesquisa científica, segundo a resolução Resolução CNS nº 466 de 2012, item VII.1.

(assinatura do pesquisador)

CONSENTIMENTO DA PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO VOLUNTÁRIO (A)

Eu, _____, CPF _____, abaixo assinado, após a leitura (ou a escuta da leitura) deste documento e de ter tido a oportunidade de conversar e ter esclarecido as minhas dúvidas com o pesquisador responsável, concordo em participar do estudo Investigação e mapeamento imunológico de pacientes infectados com o vírus SARS-CoV-2 (COVID-19), como participante da pesquisa. Fui devidamente informado (a) e esclarecido (a) pelo(a) pesquisador (a) sobre a pesquisa, os procedimentos nela envolvidos, assim como os possíveis riscos e benefícios decorrentes de minha participação. Foi-me garantido que posso retirar o meu consentimento a qualquer momento, sem que isto leve a qualquer penalidade.

Local e data _____

Assinatura do participante: _____

Presenciamos a solicitação de consentimento, esclarecimentos sobre a pesquisa e o aceite do voluntário em participar.
(02 testemunhas não ligadas à equipe de pesquisadores):

Nome:	Nome:
Assinatura:	Assinatura:

Impressão
digital

ANEXO C – ARTIGO DE REVISÃO PUBLICADO (COVID-19)



Journal of
Clinical Images and Medical Case Reports

www.jcimcr.org

ISSN 2766-7820

Review Article

Open Access, Volume 2

COVID-19: From viral infection to pulmonary failure

Guilherme Antonio de Souza Silva¹; Suellen Pedrosa da Silva²; Abdênego Rodrigues da Silva²; Georon Ferreira de Sousa¹; Bárbara Rafaela da Silva Barros¹; Rodrigo Cesar Abreu de Aquino¹; Igor Wesland Assunção de Sá³; Fábio Augusto da Cunha Rodrigues³; Evônio de Barros Campelo Júnior³; Antonio Carlos de Freitas⁴; Cristiane Moutinho Lagos de Melo^{1*}

¹Laboratory of Immunological and Antitumor Analysis, Department of Antibiotics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

²Laboratory of Protein Biochemistry, Department of Biochemistry, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

³Clinical Hospital, Department of Tropical Medicine, Federal University of Pernambuco, Brazil.

⁴Laboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy, Department of Genetics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

*Corresponding Author: Cristiane Moutinho

Lagos de Melo

Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, 50740-525, Recife, Brazil.

Tel/Fax: +55-81-2126-8866;

Email: crismout_melo@hotmail.com

Received: Mar 15, 2021

Accepted: Apr 20, 2021

Published: Apr 23, 2021

Archived: www.jcimcr.org

Copyright: © Melo CMLD (2021).

Abstract

SARS-CoV-2 is a virus which promoted a worldwide pandemic outbreak in 2020. The virus is highly infectious and is able to contaminate a lot of people in a short time period. The disease promoted by the virus, named COVID-19, can cause different symptoms such as fever, cough, muscle pain, headache, prostration, diarrhea, neurological complications, dermic manifestations, pulmonary impairment, dyspnea, coagulopathies, organ failure, and death. Here, we show how the infection occurs and the major characteristics observed in the lungs of patients with COVID-19. In addition, we explored the immunological activation in this environment by the virus and some treatments used in the severe phase of the disease.

Keywords: COVID-19; Pulmonary impairment; SARS-CoV-2; Virus; Pandemic.

Introduction

The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), cause of the outbreak of severe pneumonia, called COVID-19 (Coronavirus Disease 2019) [1], is present in more than 200 countries [2-4]. According to a notification from the COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University, by March 27, 2021, there were a total of 126,280,989 cases and 2,769,934 deaths worldwide [5].

The SARS-CoV-2 is believed to be able to disseminate through contaminated objects, respiratory droplets, and aerosols,

where the virus can be suspended in the air for up to three hours [6,7]. The symptoms are commonly recognized as fever, dry cough, tachypnea, shortness of breath, sore throat, sneezing, nasal congestion, and other symptoms, including severe inflammatory responses with the evolution of cytokine storm, pneumonia, and sepsis [8,9].

Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) is the most common complication in patients with COVID-19, with Acute Lung Injury (ALI) being the most serious form of viral infection [10]. Due to the clinical importance associated with the estab-

ANEXO D – ARTIGO ORIGINAL ACEITO PARA PUBLICAÇÃO (COVID-19)

Anais da Academia Brasileira de Ciências

Page 2 of 22

**MEMORY ELICITATION, T-CELL RESPONSE AND ANTIBODY
PRODUCTION: AN INDEPENDENT STUDY OF AN INACTIVATED ENTIRE
VIRUS VACCINE (CORONAVAC)**

Guilherme Antonio de Souza-Silva^{1a}, Rodrigo Cesar Abreu de Aquino^{1a}, Georon Ferreira de Sousa^{2a}, Bárbara Rafaela da Silva Barros^{1a}, Leonardo Carvalho de Oliveira Cruz¹, Bianca de França São Marcos², Anna Jéssica Duarte Silva², Aparecida Virgínia Soares Tales³, Madi Veiga Diniz³, Mônica Maria Cavalcante Lima³, Igor Wesland Assunção de Sá³, Fábio Augusto da Cunha Rodrigues³, Edson Barbosa de Souza³, Arione Vieira do Nascimento³, Amanda Mota Vieira⁴, Bruno Melo de Carvalho⁴, Evônio de Barros Campelo Júnior^{3b}, Antonio Carlos de Freitas^{2b}, Cristiane Moutinho Lagos de Melo^{1b*}

¹Laboratory of Immunological and Antitumor Analysis, Department of Antibiotics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

²Laboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy, Department of Genetics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

³Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco, Brazil.

⁴Institute of Biological Sciences, University of Pernambuco, Brazil.

a Souza-Silva, GA; Aquino, RCA; Sousa, GF and Barros, BRS are equally responsible for this study

b Campelo-Júnior, EB; Freitas, AC and Melo, CML are senior investigators of this study

* Corresponding authors:

Melo, CML - Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, P.O. Box: 50740-525, Recife, Brazil; Tel/Fax: +55 (81) 2126-8866; Email: cristiane.moutinho@ufpe.br

ABSTRACT

ANEXO E – CAPÍTULO DE LIVRO ACEITO PARA PUBLICAÇÃO (COVID-19)

Intelligent Diagnosis of Lung Cancer and Respiratory Diseases Betham Books

COVID-19: clinical, immunological, and image findings from infection to Post-COVID Syndrome

Georon Ferreira de Sousa¹, Guilherme Antonio de Souza Silva¹, Bárbara Rafaela da Silva Barros¹, Rodrigo Cesar Abreu de Aquino¹, Marília Raphaella Cabral Fonseca de Lima¹, Leonardo Carvalho de Oliveira Cruz¹, Elifrances Galdino de Oliveira², Igor Wesland Assunção de Sá³, Fábio Augusto da Cunha Rodrigues³, Francisco Hélio Oliveira³, Antonio Carlos de Freitas⁴, Evônio de Barros Campelo Júnior³, Cristiane Moutinho Lagos de Melo^{*}.

1 Laboratory of Immunological and Antitumor Analysis, Department of Antibiotics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil;

2 Laboratory of Neuroendocrinology and Metabolism, Department of Physiology and Pharmacology, Center for Biosciences, Federal University of Pernambuco, Brazil;

3 Clinics Hospital of Federal University of Pernambuco, Brazil

4 Laboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy, Department of Genetics, Bioscience Center, Federal University of Pernambuco, Brazil.

*Address correspondence to this author at the Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, P.O. Box: 50740-525, Recife, Brazil; Tel/Fax: +55 (81) 2126-8866, +55 (81) 2126-8866; E-mail: cristiane.moutinho@ufpe.br

1. INTRODUCTION

The COVID-19 pandemic outbreak has shown the SARS-CoV-2 virus's ability to promote high rates of transmission, virulence, and infectivity. Millions of people around the world have been infected, developed the disease, and many of them have died. This calamity is also associated with different disease evolution in the host and the prevalence of mutations of the virus.

ANEXO F – ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO

International Journal of Biological Macromolecules 180 (2021) 286–298



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijbiomac>

Characterization of a lignin from *Crataeva tapia* leaves and potential applications in medicinal and cosmetic formulations

Marcela Daniela Muniz Arruda^a, Simone da Paz Leôncio Alves^a, Iranildo José da Cruz Filho^a, Georion Ferreira de Sousa^a, Guilherme Antonio de Souza Silva^a, Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos^a, Maria do Carmo Alves de Lima^a, George Jackson de Moraes Rocha^{b,*}, Ivone Antonia de Souza^a, Cristiane Moutinho Lagos de Melo^a

^a Department of Antibiotics, Biosciences Center, Federal University of Pernambuco (UFPE), Avenida Prof. Artur de Sá, s/n, 50740-520 Recife, PE, Brazil

^b Brazilian Biorenewables National Laboratory (LNB), Brazilian Center for Research in Energy and Materials (CNPEM), Polo II de Alta Tecnologia, Rua Giuseppe Máximo Scalfaro, 10.000, PO Box 6192, 13083-100 Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 23 November 2020
Received in revised form 8 March 2021
Accepted 13 March 2021
Available online 15 March 2021

Keywords:

Lignin valorization
macromolecule
Natural products

ABSTRACT

Lignins are phenolic macromolecules that have several applications. In this work, we examine some biological activities of a lignin-like macromolecule isolated from the *Crataeva tapia* leaves, not yet studied to evaluate its potential applications in medicinal and cosmetic formulations. Lignin was obtained by alkaline delignification and its physical-chemical characterization was made by means of FT-IR, UV-Vis, NMR spectroscopy, elementary analysis, molecular mass determination and thermal analysis. Lignin is of the GSH type, with levels of hydrogen (5.10%), oxygen (27.18%), carbon (67.60%), nitrogen (0.12%) and phenolic content of 189.6 ± 9.6 mg GAE/g. In addition, it is a thermally stable macromolecule with low antioxidant activity. Cytotoxicity and cytokine production were assessed by flow cytometry. The photoprotective activity was evaluated by adding different concentrations of lignin to a commercial cream. Lignin was not cytotoxic, it stimulated the production of TNF- α , IL-6 and IL-10 and did not promote a significant change in nitric oxide levels. In addition, this macromolecule was able to promote increased absorption of ultraviolet light from a commercial cream. These results reinforce the ethnopharmacological use of *C. tapia* leaves and suggest the need for further studies to determine the potential medicinal and cosmetic applications (sunscreens) of lignin from *C. tapia* leaves.

© 2021 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Lignins are one of the main macromolecules that confer resistance and shape to the plant cell wall [1]. These macromolecules are irregular, polyphenolic polymers synthesized by dehydrogenation polymerization of phenylpropanoid units, *para*-coumaryl (*p*-coumaryl) alcohol, coniferyl alcohol, and sinapyl alcohol, to yield *p*-hydroxyphenyl (H), guaiacyl (G) and syringyl (S) structures, respectively [2]. We can also observe the existence of lignin-like macromolecules because they contain the same functional groups and chemical bonds [3].

Lignins are potentially useful in a variety of applications, including the treatment of diabetes [4], obesity control [5], antiviral activity [6], anti-phenylphysema activity [7] and sun protection [8], in addition to having possible anti-inflammatory and immunomodulatory roles [9]. Lignin-carbohydrate complexes (LCCs) have shown important biological activities, these can act as antioxidants to eliminate reactive oxygen species *in vitro* and *in vivo* [10], as immunostimulants [11], in addition to

promoting anti-inflammatory, anti-tumorigenic activities and anti-protein aggregation [12]. In addition to these biological activities, lignins are excellent thermoplastics and can be used as an excipient for the controlled release of drugs [13,14]. This wide range of activities has generated interest in biorefining these macromolecules for biotechnological uses [1–7].

The extraction of phytochemicals from plants generates a large amount of residual biomass that is usually burned in low-energy boilers to produce process steam or is added to landfills [7,15]. The rational use of this residue to produce lignin and cellulose is therefore of great economic and environmental interest [7]. The isolation of bioactive molecules from the leaves is an attractive alternative, due to the large amount of leaves produced when compared to the stem. In addition, these can be easily recovered during pruning [16].

Crataeva tapia (family Capparaaceae) is a plant species native to the Americas, with a wide distribution from Mexico to the Amazon basin [17,18]. Various studies have shown that extracts from different *C. tapia* tissues have antioxidant, antinociceptive, wound healing, antidiarrheal and anti-inflammatory activities, in agreement with the widespread use of these plants in herbal medicines [19].

* Corresponding author.

E-mail address: george.rocha@lnbr.cnpeem.br (G.J. de Moraes Rocha).

ANEXO G – ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO

International Journal of Biological Macromolecules 162 (2020) 1725–1733



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Biological Macromolecules

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijbiomac>Lignin isolated from *Caesalpinia pulcherrima* leaves has antioxidant, antifungal and immunostimulatory activities

Cristiane Moutinho Lagos de Melo^{a,*}, Iranildo José da Cruz Filho^a, Georon Ferreira de Sousa^a,
Guilherme Antonio de Souza Silva^a, Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos^a, Ricardo Sérgio da Silva^a,
Bruna Rodrigues de Sousa^b, Reginaldo Gonçalves de Lima Neto^b,
Maria do Carmo Alves de Lima^a, George Jackson de Moraes Rocha^c

^a Department of Antibiotics, Biosciences Centre, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil^b Laboratory of Medical Mycology, Department of Mycology, Federal University of Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brazil^c Brazilian Biorenewables National Laboratory (LNB), Brazilian Center for Research in Energy and Materials-CNPEM, Campinas, SP, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 12 June 2020

Received in revised form 28 July 2020

Accepted 1 August 2020

Available online 7 August 2020

Keywords:

Antifungal

Antioxidant

Immunomodulation

Lignin

ABSTRACT

Caesalpinia pulcherrima is a shrub with worldwide distribution used as an ornamental plant. In this study, we extracted a lignin from the *C. pulcherrima* leaves and investigated its biological functions. The lignin was characterized by FT-IR, UV-Vis, GPC, TGA and nuclear magnetic resonance (¹H and ¹³C). The antioxidant activity was evaluated using phosphomolybdenum complexation methods (TAA), sequestration of DPPH and ABTS radicals, reducing power, formation of nitrite radical and iron chelating activity (Fe²⁺). Antifungal activity was made using *Candida* spp., *Aspergillus* spp. and *Cryptococcus neoformans* strains. Cytotoxicity, oxidative stress, and cytokine production were performed using mouse splenocytes. The lignin showed maximal UV-Vis at ~280 nm, 22.27 L/g·cm of absorptivity and, 2.503 kDa of molecular weight. Phenolic compounds (41.33 ± 0.65 mg GAE/g) and indications of a guaiacyl-syringyl-hydroxyphenyl (GSH)-type composition were found. Antioxidant activities of lignin to TAA (40 ± 1.2%) and to DPPH (16.9 ± 0.2%) was high and showed antifungal potential, especially against *Candida* spp. (IC₅₀ = 31.3 µg/mL) and *C. neoformans* (15.6 µg/mL). In mouse splenocytes, the lignin was not cytotoxic and stimulated the cell proliferation and cytokine release. These results indicate that *C. pulcherrima* lignin has the potential to be used as antifungal and immunostimulant compound.

© 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

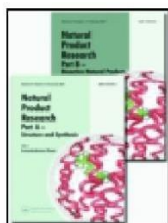
Lignins are natural amorphous and polyphenolic macromolecules of complex three-dimensional structures, present in the plant cell wall, along with cellulose and pectins [1,2]. Followed by cellulose are the most abundant biomacromolecules on earth, being considered the largest existing source of natural phenols [3,4]. Lignins are biosynthesized by dehydrogenative polymerization (initiated by enzymes) of the following primary precursors: *trans*-coniferyl alcohol, *trans*-sinapyl alcohol and *trans*-p-cumaryl alcohol giving rise to the phenylpropanoid units called: guaiacyl (G), syringyl (S) and *p*-hydroxyphenyl (H) respectively. These units are joined by different chemical bonds of the type β-O-4, β-1, β-4, β-5, 5-5 and 4-O-5 [1–4]. From a functional point of view, lignins facilitate the transport of water and nutrients, confer resistance to the cell wall and protection of polysaccharides against microbial degradation [3–5].

Traditionally, these phenolic macromolecules are obtained as a co-product of the pulp and paper industries and intended for energy production [1–4]. However, they can be recovered by acid precipitation and used as a renewable raw material to obtain different products with high added value [4,5]. Due to their complex and variable nature (sources and processes for obtaining), lignins have great versatility and may have different biological properties, such as anticoagulant, antioxidant, antitumor, antiviral and immunostimulant activities. [1,2,6–8]. These biological activities are directly associated with the chemical structure [1,2,7].

Caesalpinia pulcherrima (Linn) Swartz (family Fabaceae) is a plant species found in tropical and subtropical regions of Africa, Asia, Australia, the Americas and the Caribbean [9], and is widely used as an ornamental plant because of the vibrant colors of its flowers. Ethnopharmacological studies have identified anticonvulsant, antibacterial, anti-inflammatory, leishmanicidal and antioxidant activities in leaf, flower, pod and root of the *C. pulcherrima* extracts [9–12]. In addition, polysaccharides (mainly galactomannans) from this plant have been investigated as functional foods [13]. Although various reports have demonstrated the ethnopharmacological potential of organic

* Corresponding author at: Departamento de Antibióticos, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Avenida Prof. Artur de Sá, s/n. 50740-520 Recife, PE, Brazil.
E-mail address: cristiane.moutinho@ufpe.br (C.M.L. de Melo).

ANEXO H – ARTIGO ORIGINAL PUBLICADO



Natural Product Research
Formerly Natural Product Letters



ISSN: (Print) (Online) Journal homepage: <https://www.tandfonline.com/loi/gnpl20>

Evaluation of cytotoxic, immunomodulatory effects, antimicrobial activities and phytochemical constituents from various extracts of *Passiflora edulis* F. *flavicarpa* (Passifloraceae)

Georon Ferreira de Sousa , Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos , Ricardo Sérgio da Silva , Bárbara Rafaela da Silva Barros , Iranildo José da Cruz-Filho , Bárbara de Azevedo Ramos , Túlio Diego da Silva , Pêrsio Alexandre da Silva , Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto , Norma Buarque de Gusmão , Marcia Silva do Nascimento & Cristiane Moutinho Lagos de Melo

To cite this article: Georon Ferreira de Sousa , Dayane Kelly Dias do Nascimento Santos , Ricardo Sérgio da Silva , Bárbara Rafaela da Silva Barros , Iranildo José da Cruz-Filho , Bárbara de Azevedo Ramos , Túlio Diego da Silva , Pêrsio Alexandre da Silva , Reginaldo Gonçalves de Lima-Neto , Norma Buarque de Gusmão , Marcia Silva do Nascimento & Cristiane Moutinho Lagos de Melo (2020): Evaluation of cytotoxic, immunomodulatory effects, antimicrobial activities and phytochemical constituents from various extracts of *Passiflora edulis* F. *flavicarpa* (Passifloraceae), Natural Product Research

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1798660>



View supplementary material [↗](#)



Published online: 07 Aug 2020.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
<https://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=gnpl20>

Hematological, Biochemical, Microbiological and Clinical findings in patients with COVID-19 from Ward and ICU

Georon Ferreira de Sousa^{1,2}, Guilherme Antonio de Souza-Silva^{1,2}, Bárbara Rafaela da Silva Barros^{1,2}, Rodrigo Cesar Abreu de Aquino^{1,2}, Leonardo Carvalho de Oliveira Cruz^{1,2}, Aparecida Virgínia Soares Tales³, Edson Barbosa de Souza³, Arione Vieira do Nascimento³, Igor Wesland Assunção de Sá³, Fábio Augusto da Cunha Rodrigues³, Evônio de Barros Campelo Júnior³, Amanda Mota Vieira⁴, Bruno Melo de Carvalho⁴, Antonio Carlos de Freitas⁵, Cristiane Moutinho Lagos de Melo^{1,2*}.

1 Federal University of Pernambuco, Laboratory of Immunological and Antitumor Analysis, Department of Antibiotics, Bioscience Center, Av. Prof. Artur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50740-525 Recife, PE, Brazil

2 Federal University of Pernambuco, Keizo Asami Immunopathology Laboratory (LIKA), Avenida Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

3 Clinical Hospital of Federal University of Pernambuco, Avenida Professor Moraes Rego, 1235, Cidade Universitária, 50670-901, Recife, PE, Brazil.

4 University of Pernambuco, Institute of Biological Sciences, Rua Arnóbio Marquês, 310, Santo Amaro, 50100-130, Recife, PE, Brazil.

5 Federal University of Pernambuco, Laboratory of Molecular Studies and Experimental Therapy, Department of Genetics, Bioscience Center, Avenida Reitor Joaquim Amazonas, s/n, Cidade Universitária, 50740-570, Recife, PE, Brazil.

* Corresponding author:

Melo, CML - Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco, P.O. Box: 50740-525, Recife, Brazil; Tel/Fax: +55 (81) 2126-8866;

Email: cristiane.moutinho@ufpe.br

ABSTRACT

The COVID-19 pandemic two years ago has caused a lot of global upheaval in terms of public health, economics, and politics. The number of cases and deaths has increased in oscillations called waves and even after the vaccination process has started, there is still no medicine aimed at fighting the virus. This study aims to provide more knowledge about the pathogenesis of COVID-19, in laboratory and clinical aspects, confronting the evolution of the disease in Ward and ICU patients. Results showed that the main symptoms presented by the Ward and ICU patients were dyspnea (74.41% and 45.45%) and fever (55.17% and 27.27%). The main comorbidities observed were hypertension (34.48% and 70%) and obesity (17.24 and 20%). Chest-CT exams demonstrated the prevalence of classic findings such as ground-glass opacities. In addition, ICU patients had moderate and severe disease as the most prevalent. The main drugs used in the ward were anti-inflammatories, antibiotics, antiretrovirals and anxiolytics. In ICU patients, there was a reduction in red blood cells, hematocrit, and lymphocytes (including all T subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, and CD19⁺), associated with an increase in neutrophils, LDH, ferritin, Dimer-D, fibrinogen, and C-reactive protein (PCR). The most prevalent microorganisms were *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Klebsiella pneumoniae*. The association among hematological, biochemical, and immunological data, can be a predictive factor on medical management and permanence of the patient in the Ward or UTI. Furthermore, the longtime of internment in UTI, associated with to use of the invasive dispositive, can promote nosocomial coinfections and excessive use of antibiotics. Likewise, investigating and controlling possible comorbidities seems to be essential in the prevention of the severity of the COVID-19.

Keywords: SARS-CoV-2; IMMUNOPHENOTYPING; INFLAMMATION.

1. INTRODUCTION

The COVID-19 scenario shows 80% of asymptomatic cases, 15% of mild or moderate illness evolution, and 5% of severe disease development possibilities. Nevertheless, currently, it has 419.212.009 worldwide confirmed cases and 5.859.434 deaths (Rahman et al., 2021; JHU, 2022). Symptoms can evolve from dry cough, fever, headache, and sore throat to hypoxia, dyspnea, and Acute Respiratory Distress Syndrome (ARDS) (Sharma et al., 2021; Melo et al., 2020). Beyond, if patients have comorbidities like hypertension, obesity, autoimmune diseases, and diabetes other complications of the disease can lead to death (Sharma et al., 2021).

Healthcare professionals, since 2020, have trying to treat COVID-19 using different strategies due to the absence of drugs against the virus that promotes the disease. Those drugs can promote hepatotoxic and nephrotoxic side effects. Furthermore, the immunological system can be lead to the severe behavior of the disease, and the resistance of microorganisms also can act on sepsis promotion (Musuuza et al., 2021). Here, hematological, biochemical, immunological, microbiological, and clinical findings from patients with moderate and severe COVID-19 are represented to help in diagnostic and knowledge about the disease.

2. METHODOLOGY

2.1. Study location, Patients, and ethical considerations

The study was carried out in partnership with the Clinical Hospital of the Federal University of Pernambuco. The research subjects were patients treated at Clinical Hospital, in both Ward and intensive care unit (ICU), both sexes, over 18 years of age and following the logic of a convenience sample. This project has an approved ethics committee and an Informed Consent Term (TCLE) signed by the research subjects, through the CAAE: 30332120.8.3001.5191, number of the CEP's Consubstantiated Opinion: 4,206.047.

2.2. Inclusion criteria and samples collection

Inclusion criteria was individuals of both sexes, over 18 years of age, who were admitted to the hospital in Ward and ICU with positive diagnosis to COVID-19 (through rt-PCR test). Children and patients with other severe respiratory syndromes will be excluded from the study. Blood samples (collected in different tubes (BD Vacutainer®) for) were obtained to hematological, coagulograma, serological, biochemical, immunological, and microbiological investigations. SWABS were used to investigate de microorganism's presence in trachea, nasal, and rectal structures of patients. Urine was collected via urinary catheter after antisepsis of the urethral region, and stored in a sterile tube suitable for urine culture. For blood culture, blood samples were stored in BD Bactec/F vacuette-type blood culture tubes for aerobic and anaerobic organisms (containing 10 ml of blood in each tube), after antisepsis with 0.5% alcohol chlorhexidine.

2.3. Hemogram and biochemical analysis

Blood samples were collected from the patients through collection in a vacuum tube system of EDTA (Vacutainer BD®). The hematological processing of the samples consisted of the acquisition of blood indices (Erythrocytes, Hb, Hct, Mean Corpuscular Volume - MCV, Mean Corpuscular Hemoglobin - MCH, Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration - MCHC and the distribution amplitude of red blood cells - RDW), in addition to the leukogram (total leukocytes, immature leukocyte lineage cells, segmented neutrophils, eosinophils, basophils, typical and atypical lymphocytes, monocytes), and the platelet count. All samples were acquired and analyzed by the Yumizen H2500® hematological analysis cytometer, followed by analysis of the slides under optical microscopy, to describe any changes and cellular inclusions. The coagulogram, including parameters such as Prothrombin Time - PT, AE, INR, Activated Partial Thromboplastin Time - APTT, RATIO and fibrinogen, was obtained using a STA Compact Max® automatic analyzer, and the samples were collected in a tube containing Sodium Citrate, for this type of analysis.

Serum was obtained from the patients by collecting it in a dry tube containing clot activator (Vacutainer BD®) and the processing resulted in biochemical parameters such as creatinine, creatine phosphokinase - CPK, lactate dehydrogenase - LDH, ferritin, gamma glutamyl transferase – GGT, oxaloacetic transaminase - TGO, glutamic-pyruvic transaminase - TGP, urea, C-reactive protein - CRP, bilirubin, D-dimer, and alkaline phosphatase. The automated equipment used was the Architect i2000SR® (Abbot®). In

addition, the Ionogram of the samples (sodium, potassium, chloride, calcium, magnesium, and phosphorus) was investigated using the CMD 800i® equipment (Wiener lab®).

2.4. Isolation and culture of Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) and Cell immunophenotyping

The isolation of PBMCs was performed using a concentration gradient technique (Fiscal-Paque™ Plus; GE Healthcare Life Science, Sweden), where the samples were subjected to a centrifugation of 900 g, for 30 minutes, at 20° C. After cell ring separation (PBMCs), cells were washed once with sterile phosphate-buffered saline (1X PBS) by means of centrifugation (400 × g, 10 min, 20 °C). The labeling by antibodies conjugated to fluorophores was performed for the investigation of differential count and cell activation. For detection of lymphocytes, the antibodies CD3, CD4, CD8, CD19, were used. After marking and washing, the cells were fixed with the BD Cytofix fixing solution, and incubated in the solution, with subsequent washing and centrifugation, and stored in a refrigerator, protected from light, until the moment of data acquisition on the flow cytometry platform FACS-VERSE (Bioscience BD®), in 10,000 events, with analysis in Flowing 2.01® software.

2.5. Microbiological research

Nasal and rectal swabs collected from patients, in addition to pleural/tracheal secretions, blood cultures and urine cultures were used to investigate microbiological contamination (bacteria and fungi). For identification and microbiological laboratory diagnosis immediately after collection, clinical samples were seeded on blood agar and McConkey agar and incubated at 35 °C to 37 °C for 18 to 24 hours. After growth, the microorganisms were identified by phenotypic and biochemical tests. Catalase test was performed on *Staphylococcus* spp. isolates, and their growth was evaluated on DNase agar and resistance to novobiocin.

Catalase negative bacteria that were alpha hemolytic were seeded on agar bile-esculin and infusion, while catalase-negative and beta-hemolytic bacteria were tested for CAMP, bacitracin and PYR. Bacteria isolated from McConkey agar were identified by laboratory tests defined in the protocol of the Clinical and Laboratory Standards Institute. For the bacteria identified in the manual tests, the cultures were submitted to the automation system for the confirmation of the species and to the antimicrobial susceptibility tests (AST or TSA) for these bacteria, using the BD Phoenix™ equipment.

All reports were released based on the Brazilian Committee database where Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST).

In cases suggestive of fungal infections, the samples were analyzed by direct examination prepared with 20% KOH and fresh (without clarifying, dye or contrast agent). For yeasts, it was necessary to carry out biochemical and physiological tests.

2.6. Clinical research

The clinical investigation of the patients took place through the analysis and investigation of the medical records, including the clinical history of the patients, where the aspects of anamnesis at the time of admission, symptoms during the course of the disease, medications used, imaging tests, laboratory tests, time of hospitalization, presence of comorbidities, and co-infections.

2.7. Statistical analysis

The sample data passed the D'Agostino normality test followed by the analysis of variance test (ANOVA). Comparison between groups was performed using the Mann Whitney test. Data were analyzed using the Graphpad Prism® Software for Windows, version 9.0.

3. RESULTS

This study investigated the disease development process and outcome from patients with COVID-19, during the pandemic, in both ward and ICU by University Hospital. Samples from 85 patients showed that 74% were from ward and 26% from ICU, the range of age were between 18 and 87 years, and the majority were women (54%).

Symptoms as dyspnea (74,41% and 45,45%), fever (55,17% and 27,27%) and O2 supplementation (13,79% and 100%) from ward and ICU, respectively were the most prevalent (Table 1). More serious data were observed in patients from ICU and with present comorbidities, which highlight to hypertension (34.48% for ward and 70% for ICU) (Table 2).

Table 1: Parameters of clinic occurrence in the patients COVID-19 from ward and ICU

Clinics occurrence	Ward (%)	ICU (%)
Dyspnea	74.41	45.45

Cough	58.68	18.18
Fever	55.17	27.27
Tachypnea	27.59	9.09
Decrease of O ₂ saturation	24.17	-
Chest CT showing ground-glass structures	20.69	36.36
O ₂ Supplementation	13.79	100*
ARDS	-	100
Headache	-	9.09
Sore throat	3.45	-
Anosmia	6.90	-
Ageusia	3.45	-
Nauseas	3.45	9.09
Vomiting	-	9.09
Acute breathing insufficiency	-	9.09
Limit saturation	-	9.09
Cardiac insufficiency	-	9.09
Acute myocardial infarction	3.45	9.09
Odynophagia	3.45	-
Bach pain	3.45	-
Myalgia	6.90	-
Abdominal pain	3.45	18.18
Diarrhea	6.90	9.09
Inappetence	3.45	-
Tracheal bypass + pleural drainage	-	18.18
Hemodialysis	-	18.18
Lung incarceration/pleural lesion with clots	-	9.09
Bladder invasion with bone hematuria with vertebral lytic lesions	-	
Cerebral Vascular Accident (CVA)	-	
Renal insufficiency	-	
Tracheostomy	-	

* Through intubation

Table 2: Major comorbidities observed in patients with COVID-19 from Ward and ICU

Comorbidities	Ward (%)	ICU (%)
Without comorbidities	34.48	0
Hypertension	34.48	70
Obesity	17.24	20
Diabetes	20.69	10
HIV	10.34	20
Prostate adenocarcinoma	6.90	10
Chronic hepatopathy		20
leishmaniosis visceral	3.45	-
Cardiac insufficiency		-

Chronic arterial disease		-
Burkitt Lymphoma		-
Fibromyalgia		-
Monoarthritis	-	
Acute/Chronic Kidney Injury	-	
Progressive jaundice	-	
Secondary osteomalacia	-	10
Chronic subdural collection	-	
Empyema	-	
Deep vein thrombosis	-	

The image exams by Computed tomography show different degrees of pulmonary compromising between patients from ward and ICU. Classical findings as ground-glass opacities, with peripheral and diffuse distribution, consolidations and interlobular septa thickening were found. The frequency profiles from X-ray can be seen in Table 3 and Figure 4.

Table 3: Computed tomography findings from patients of Ward and ICU with COVID-19

	CT findings (%)				Degree of involvement (%)			
	Regular	GGO	CONS	IST	Regular	Mild <25%	Moderate 25-50%	Severe >50%
Ward	4.7	5.8	4.7	3.5	4.7	2.3	4.7	1.1
ICU	18.1	31.8	9.0	22.7	18.1	0	13.6	18.1

GGO – ground-glass opacities

CONS – Consolidations

IST - interlobular septa thickening

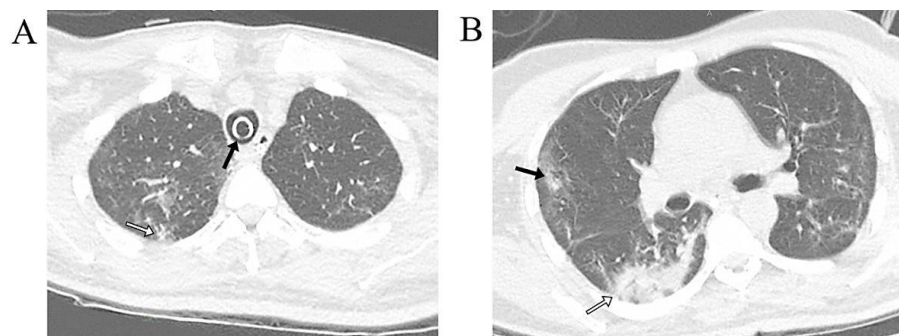


Figure 1. Computed tomography from axial chest in patients with COVID-19. **A** - Multiple foci of peripheral ground-glass opacities are observed, in addition to intralobular septa thickening (white arrow). There is also the presence of an orotracheal tube (black arrow), indicating the severity of the disease. **B** - Consolidative opacity in the upper segment of the right lower lobe (white arrow). There is also confluent ground glass (black arrow), tending to form consolidation.

The mean internment time for the ward patients was 6 days and for ICU patients was 54 days. The medication utilization changed in accordance with symptomatology, internment place, and profile of disease evaluation in patients. The major drugs used in patients from Ward were anti-inflammatory, antibiotics, and anticoagulants. For ICU's patients were antivirals and anxiolytics. The drugs used can be observed in Table 4.

Table 4: Distribution of drugs used in patients of Ward and ICU with COVID-19

Expected action	Drugs	Ward (%)	ICU (%)
Anti-inflammatory, Immunosuppressors, and Antiallergics	Dexamethasone	48.26	27.27
	Acid acetylsalicylic	3.45	9.09
	Methylprednisolone	-	9.09
	Prednisone	6.90	-
Antibiotics	Ceftriaxone	31.03	36.36
	Azithromycin	20.39	27.27
	Clindamycin	3.45	9.09
	Bactrim	3.45	9.09
	Meropenem	3.45	27.27
	Ertapenem	-	18.18
	Polymyxin B	-	9.09
	Vancomycin	-	9.09
	Micafungin	-	9.09
	Unasyn	-	9.09
	Ampicillin	-	9.09
	Tobramycin	-	9.09
Antifungals and Antiparasitic	Amphotericin B	3.45	9.09
	Ivermectin	-	18.18
Antivirals and antiretrovirals	Acyclovir	3.45	-

	Darunavir	3.45	18.18
	Ritonavir	3.45	18.18
	Reltegravir	3.45	-
	Etravirine	3.45	-
	Dolutegravir	-	18.18
	Lamivudine	-	9.09
Anti-hypertensives and for Cardiac insufficiency	Amlodipine	10.36	9.09
	Atenolol	6.90	-
	Metoprolol	3.45	-
	Hydralazine	-	9.09
	Carvedilol	-	18.18
Anticoagulants and Antithrombotic	Enoxaparin	27.41	27.27
	Heparin	-	18.18
	Bisulfate of Clopidogrel	3.45	9.09
Antidepressants, Anxiolytics e Anticonvulsants	Fluoxetine	3.45	-
	Diazepam	-	9.09
	Quetiapine	-	9.09
	Clonazepam	-	9.09
	Carbonate of lithium	-	9.09
	Mirtazapine	-	9.09
Analgesics and Opioids	Fentanyl	-	9.09
	Tramadol retard	-	9.09
Antiemetics	Domperidone	3.45	-
	Metoclopramide	-	9.09
Antineoplastics	Ellegard	-	9.09
	Zemeta	-	9.09
	Bicalutamide	-	9.09
Vasodilators and Bronchodilators	Salbutamol	17.25	9.09
	Isosorbide	-	9.09
Optic Lubricants	Lacribell	3.45	-
	Dorzolamide	3.45	-
Glucose carrier	Insulin	13.79	27.27
Statin	Simvastatin	10.36	9.09
Diuretic	Hydrochlorothiazide	10.36	-
Antiacid	Omeprazole	3.45	9.09

D Vitamin	Cholecalciferol	-	9.09
Hypothyroidism treatment	Levotriaxone	-	9.09

The patients interned in ICU showed a reduction in erythrocytes (4.20 ± 0.52 / 3.75 ± 0.78 , to patients from Ward and ICU, respectively, $p = 0.0402$) and in hematocrit (36.43 ± 4.52 / 31.95 ± 6.334 , to patients from Ward and ICU, respectively, $p = 0.0322$) parameters.

Leukocytosis, which occurs when results from total leukocytes counting get values above $11,000 \text{ cells/mm}^3$, was observed in 27,6% of the patients from Ward and of 40% in patients from ICU. Those results can be related to increasing of neutrophils observed especially in patients from ICU (90% of them). Furthermore, all of ICU's patients showed lymphopenia (Figure 2A-B). The biochemical parameters results showed that LDH, ferritin, D-Dimer, fibrinogen, and C-reactive protein (C-RP) were increased (Table 5).

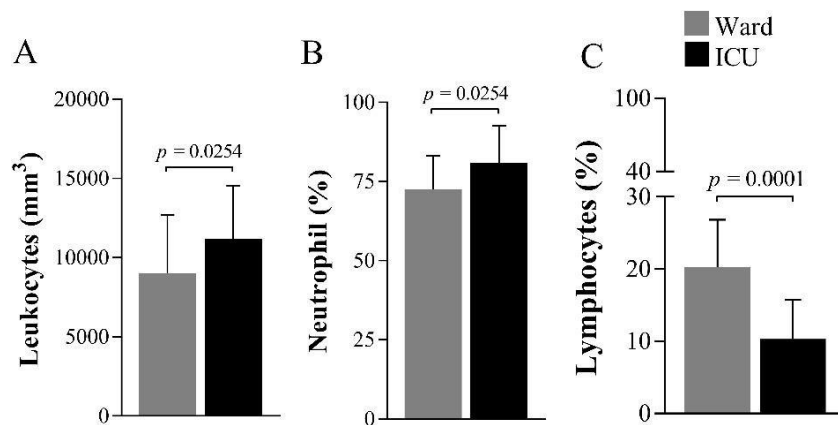


Figure 2. Leukocytes counting from patients with COVID1-9. Increased values to leukocytes and neutrophils were found in ICU's patients. The p values can be found in the graphic. Vertical bars represent the mean and standard deviation of 85 samples.

Table 5: Biochemical markers found in patients with COVID-19

Marker	Reference values	Ward	ICU
Biochemical			
Creatinine	0.6 – 1.3 mg/dL	0.8 ± 0.3	0.8 ± 0.3
CPK	<195 mg/dL	57.8 ± 41.8	40.7 ± 16.2
LDH*	230 – 460 U/L	357.9 ± 168.1	501.1 ± 192
Ferritin	5 – 323 ng/mL	484.2 ± 273.1	664.8 ± 338.3

Gamma GT	7 – 50 U/L	158.4 ± 109.7	217.8 ± 82.1
AST	<38 U/L	36.8 ± 19.5	39.3 ± 18.3
ALT	<41 U/L	49.1 ± 36.8	59.1 ± 27.2
Urea	10 – 50 mg/dL	37.1 ± 17.3	54.9 ± 37.5
C-RP*	0 – 0.5 mg/dL	4 ± 4.1	8.9 ± 6.4
Bilirubin	<1 mg/dL	0.4 ± 0.1	0.4 ± 0.1
D-Dímero	<500 ng/mL	1041 ± 680.7	2003 ± 1432
ALP	40 – 150 UI/mL	93.2 ± 46.7	139.6 ± 86.1

Hemostasis (Coagulograma)

TP	10 – 14 s	13.7 ± 1.2	13.3 ± 2.8
AE	<125	93.8 ± 14.6	86.3 ± 7.7
INR	0.8 – 1.2	1 ± 0.1	1.2 ± 0.4
Fibrinogen*	200 – 400 mg/dL	559.6 ± 119.4	631.3 ± 119.7
TTPA		30 ± 5.5	28.1 ± 2.9
RATIO	< 1,25	1 ± 0.1	0.8 ± 0.1

Ionograma

Sodium	134 – 149 mmol/L	136.5 ± 4.5	138.6 ± 2.8
Potassium	3.6 – 5.5 mmol/L	4.3 ± 0.5	4.4 ± 0.8
Chlorite	94 – 112 mmol/L	100.6 ± 4.9	103.3 ± 3.8
Calcium	8.4 – 10.2 mg/dL	8 ± 0.7	7.5 ± 1.5
Magnesium	1.46 – 2.2 mg/dL	2.1 ± 0.3	2.2 ± 0.3
Phosphor	2.3 – 4.7 mg/dL	3.3 ± 0.7	3.3 ± 0.9

* LDH ($p = 0.0218$), PCR ($p = 0.0049$) e Ferritin ($p = 0.0162$).

Cytokine production showed the increased of IL-2 ($p = 0.0038$) and IL-17 ($p = 0.0001$) in patients from ICU (Figure 3). Although the cytokines IL-4 ($198.8 \pm 0.8 / 197.5 \pm 1.3$), IL-6 ($242.4 \pm 1.6 / 242.7 \pm 2.6$), IL-10 ($207.9 \pm 0.6 / 208.3 \pm 1.9$), TNF- α ($194.1 \pm 1.9 / 197.1 \pm 5.8$), and IFN- γ ($1182.1 \pm 1.9 / 1182.3 \pm 2.3$), to Ward and ICU, respectively, did not showed statistical differences, it could observe that IL-6 and IFN- γ showed increased values in relation to other cytokines evaluated.

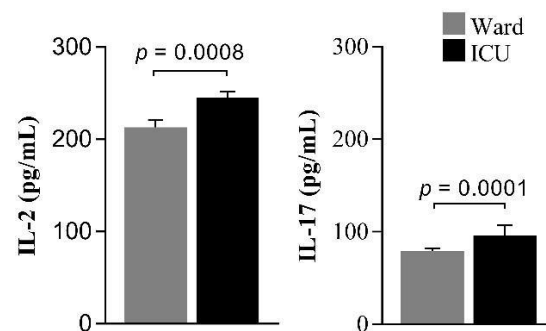


Figure 3. Cytokine profile found in serum of patients with COVID-19. Superior values were found for IL-2 and IL-17 in patient's blood from ICU. The p values are highlighted in graphic. Vertical bars represent the mean and standard deviation of 85 samples.

The immunological analysis investigated the lymphocytes T CD CD4⁺, T CD8⁺, and B. Previously was described that patient of ICU showed a lymphopenia (Figure 2), in fact, was observed that occurred a decreased of T CD3⁺ lymphocytes and other subsets (CD4⁺, CD8⁺ e CD19⁺), with statistical values to T CD4⁺ (Figure 4).

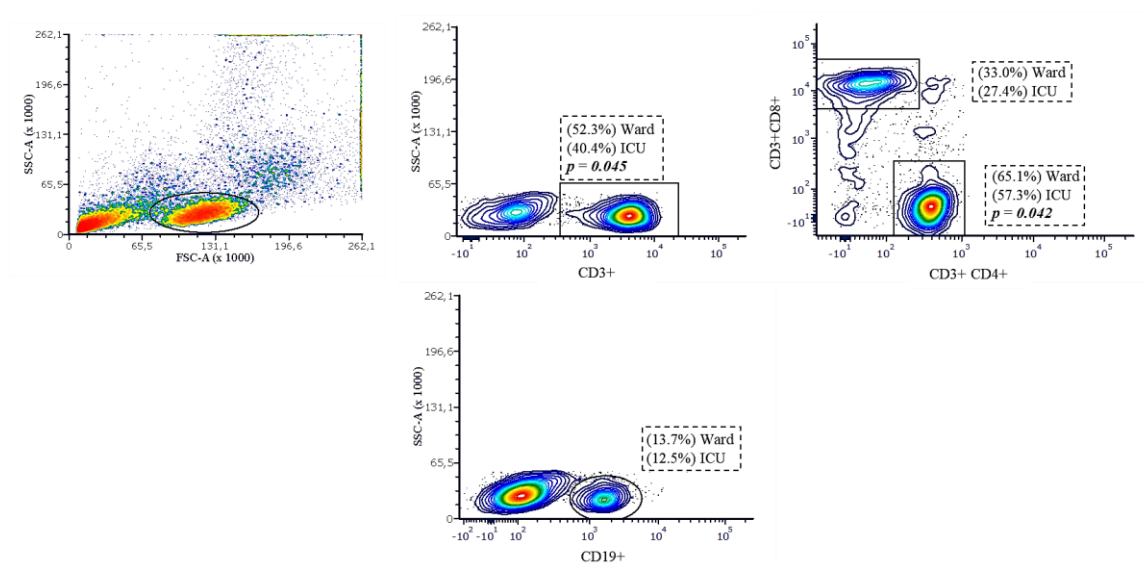


Figure 4. Immunophenotyping of lymphocyte with COVID-19. The mean of each gate was plotted with perceptual values. The p values are highlighted on graphic. Values represent the mean and standard deviation of 85 samples.

In addition to the pathogenesis caused by the SARS-CoV-2 virus, secondary bacterial infections are considered critical risk factors for the severity and mortality rates of COVID-19 and were observed in the patients in this study. The major collection area in patients from the Ward were blood culture (45.16%) and urine culture (41.94%) and in ICU patients it was blood culture (68.18%) and nasal SWAB (68.18%). Beyond, the positivization of samples occurred in all collection areas from patients from ICU, except nasal SWAB (Table 6).

Table 6: Collection area of samples to microbiological investigation in patients with COVID-19.

Ward				ICU			
Collection area		(%)	(%)		(%)	(%)	
Blood culture	Unexecuted	54.84		Unexecuted	31.82		
	Executed	45.16	(+) 21.43 (-) 78.57	Executed	68.18	(+) 40.00 (-) 60.00	
Urine culture	Unexecuted	58.06		Unexecuted	36.36		
	Executed	41.94	(+) 30.77 (-) 69.33	Executed	63.64	(+) 42.86 (-) 57.14	
Tracheal culture	Unexecuted	87.1		Unexecuted	63.64		
	Executed	12.9	(+) 75.00 (-) 25.00	Executed	36.36	(+) 87.50 (-) 12.50	
Rectal SWAB	Unexecuted	69.35		Unexecuted	45.45		
	Executed	30.65	(+) 31.58 (-) 68.42	Executed	55.55	(+) 33.33 (-) 66.67	
Nasal SWAB	Unexecuted	72.58		Unexecuted	31.82		
	Executed	27.42	(+) 47.06 (-) 52.94	Executed	68.18	(+) 25.00 (-) 75.00	

Results from blood culture showed the prevalence of *Staphylococcus epidermidis* in both Ward (33,3%) and ICU (50%), in urine culture it was observed the presence of *Escherichia coli* (66.6%) in patients of Ward and *Enterococcus faecalis* (40%) in the patients of ICU. In addition, the tracheal culture showed the presence of *Klebsiella pneumoniae* in both Ward (62.5%) and ICU (25%). The other microorganisms found are described in Table 7.

Table 7. Microbiological isolates by collection area in patients with COVID-19.

Blood culture (%)			
Ward		ICU	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33.3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	50
<i>Staphylococcus capitis</i>	33.3	<i>Pseudomonas Putida</i>	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	33.3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	20
Urine culture (%)			
Ward		ICU	
<i>Escherichia coli</i>	66.6	<i>Enterococcus faecalis</i>	40
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	22.2	<i>Staphylococcus pneumoniae</i>	20
<i>Enterococcus faecalis</i>	11.1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	20
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	20
Tracheal culture (%)			
Ward		ICU	
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62.5	<i>Enterococcus faecalis</i>	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25
<i>Proteus mirabili</i>	12.5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	12.5
		<i>Achromobacter spp.</i>	12.5
		<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	12.5
		<i>Staphylococcus hominis</i>	12.5

Nasal SWAB (%)			
Ward		ICU	
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	37.5	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	33.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	25	<i>Staphylococcus hominis</i>	33.3
<i>Acinetobacter baumannii</i>	12.5	<i>Acinetobacter baumannii</i>	33.3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12.5		
<i>Staphylococcus hominis</i>	12.5		
Rectal SWAB (%)			
Ward		ICU	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	27.3	<i>Staphylococcus maltophilia</i>	50
<i>Staphylococcus maltophilia</i>	27.3	<i>Acinetobacter baumannii</i>	25
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27.3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	25
<i>Enterobacter cloacae</i>	9.09		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9.09		

The microbiological resistance and sensibility investigation showed that microorganisms isolated from blood had resistance to Ampicillin-Sulbactam and Streptomycin. Urine present microorganisms resistant to Ampicillin-Sulbactam and microorganisms from trachea showed resistance to Erythromycin, Oxacillin, and Rifampicin. Ceftriaxone, Imipenem and Meropenem were the most effective drugs for nasal and rectal SWABS. All results can be seen in Tables 8 and 9.

Table 8: Profile of resistance and sensibility by microorganisms isolated from blood, urine, and trachea of the patients with COVID-19.

Drugs	Blood culture		Drugs	Urine culture		Drugs	Trachea culture	
	Resistance (%)	Sensibility (%)		Resistance (%)	Sensibility (%)		Resistance (%)	Sensibility (%)
Ampicillin-Sulbactam	100	0	Ampicillin-Sulbactam	100	0	Clindamycin	100	0
Cefepime			Ertapenem	88.89	11.11	Erythromycin		
Cefoxitin			Levofloxacin	83.33	16.67	Oxacillin		
Ceftriaxome			Trimethoprim	83.33	16.67	Rifampicin		
Cefuroxime			Cefepime	81.82	18.18	Teicoplanin		
Cefuroxime axeril			Ceftriaxome	77.78	22.22	Cefuroxime	85.71	14.29
Erythromycin			Ciprofloxacin	76.92	23.08	Cefuroxime axeril		
Levofloxacin	83.33	16.67	Cefuroxime	75	25	Ampicillin	83.33	16.67
Oxacillin			Cefuroxime axeril			Meropenem		
Penicillin G			Ampicillin	72.73	27.27	Ceftriaxome	77.78	22.22
Piperacillin			Ceftazidime	71.43	28.57	Cefepime	76.92	23.08
Clindamycin			Piperacillin	66.67	33.33	Imipenem		
Amikacin			Cefoxitin			Cefoxitin	75	25
Ertapenem			Streptomycin-SIM	50	50	Ciprofloxacin	71.43	28.57
Ciprofloxacin	66.67	33.33	Gentamicin-SIM			Ertapenem	70	30
Trimethoprim	63.64	36.36	Imipenem	37.50	62.50	Tigecycline	66.67	33.33
Ampicillin	50	50	Gentamicin	33.33	66.67	Ceftazidime	61.54	38.46
Ceftazidime			Meropenem	11.11	88.89	Piperacillin	60	40
Rifampicin			Tigecycline			Penicillin G	50	50
Teicoplanin			Amikacin	9.09	90.97	Gentamicin	42.86	57.14
Gentamicin	40	60	Colistin			Levofloxacin		
Chloramphenicol	25	75	Daptomycin	0	100	Amikacin	38.46	61.54
Imipenem			Linezolid			Colistin	37.50	62.50

Meropenem			Penicillin G		Ampicillin-Sulbactam	33.33	66.67
Tigecycline			Teicoplanin		Trimethoprim	25	75
Colistin			Vancomycin		Chloramphenicol		
Daptomycin					Daptomycin		
Streptomycin-SIM					Streptomycin-SIM		
Gentamicin-SIM	0	100			Gentamicin-SIM	0	100
Linezolid					Linezolid		
Minocycline					Minocycline		
Vancomycin					Vancomycin		

Table 9: Profile of resistance and sensibility by microorganisms isolated from rectal and nasal SWAB of the patients with COVID-19

Rectal SWAB			Nasal SWAB		
Drugs	Resistance (%)	Sensibility (%)	Drugs	Resistance (%)	Sensibility (%)
Cefoxitin	100	0	Ampicillin	100	0
Clindamycin			Ceftriaxome		
Ceftriaxome			Erythromycin		
Ertapenem			Ertapenem		
Imipenem			Oxacillin		
Meropenem			Penicillin G		
Oxacillin			Piperacillin		
Ampicillin	75	25	Ciprofloxacin	88.89	11.11
Cefepime			Clindamycin	80	20
Ciprofloxacin	72.73	27.27	Levofloxacin		
Amikacin	71.43	28.57	Cefepime	75	25
Ampicillin-Sulbactam	66.67	33.33	Ceftazidime		
Ceftazidime	63.64	36.36	Imipenem		
Piperacillin	57.14	42.86	Meropenem		
Gentamicin	50	50	Ampicillin-Sulbactam		
Trimethoprim			Chloramphenicol	66.77	33.33
Tigecycline	25	75	Rifampicin		
Colistin			Trimethoprim	62.50	37.50
Daptomycin	0	100	Gentamicin		
Linezolid			Teicoplanin	20	80
Rifampicin			Tigecycline		
Teicoplanin			Daptomycin	16.67	83.33
Vancomycin			Linezolid		
			Colistin	0	100
			Streptomycin-SIM		
			Gentamicin-SIM		
			Minocycline		
			Vancomycin		

4. DISCUSSION

The major severity symptoms were found in patients from ICU due to their clinic complications and comorbidities. The more prevalent symptoms such as fever, shortness of breath or dyspnea, headache, sore throat, and cough were equivalent to those seen in other studies (Lovato and Filippis, 2020; Zhu et al., 2020). Likewise, the more prevalent comorbidities were hypertension, obesity, and diabetes (Abohamr et al., 2020).

Some studies have been showing a significant reduction in hemoglobin and hematocrit levels, especially to serious disease outcomes (Huang et al., 2020; Liu et al., 2020; Lippi et al., 2020). Similar to results of this study, the findings of Djakpo et al. (2020) show that about 208 patients with COVID-19 present reduced hematocrit (37.4%) and erythrocytes (3.19 million/ μ L). These erythrocyte changes may be correlated with the inability of the bone marrow to produce enough red blood cells due to hyperinflammation caused by COVID-19, as well as the reduction of oxygen saturation, which are directly associated with the severe outcomes of the disease (Algassim et al., 2020).

Severe COVID-19 induce leukocytosis, associated to neutrophilia, and transitional lymphopenia (Sun et al., 2020; Brondani et al., 2020; Levi et al., 2020). Beyond, some biochemical markers point to increased inflammatory profile of those patients (Ghazanfari et al., 2021; Mahroum et al., 2022; Smilowitz et al., 2021). Similar to our results, Li et al. (2020ab), showed the increase of neutrophils, LDH, PCR and fibrinogen in severe patients. The lymphopenia, previously mentioned, occurs due to lymphocytes migration, especially the cytotoxic, to mucoid tissues to fight viral infection (Blomme et al., 2020).

The results obtained in this study, by immunophenotyping, demonstrated a decrease in lymphocytes T CD3⁺ and T CD4⁺ number in the blood of patients from ICU, findings also showed by Kang et al. (2020) and Kalfaoglu et al. (2021). Furthermore, the inflammatory status of patients, especially from ICU, also was demonstrated by the prevalence of IFN- γ , IL-2, and IL17 cytokines. The IL-2 production can be a response due to lymphopenia. The study performed by Zhang et al., (2020) shows the potential protective role of IL-2 signaling in delaying the onset of lymphopenia in COVID-19 patients and demonstrates that IL-17, and other inflammatory cytokines, are related to severe COVID-19 outcomes and may trigger the cytokine storm (Parackova et al., 2020, Xu et al., 2020; Pacha et al., 2020; Huang et al., 2020).

Currently knowledge about immunological role of inflammatory cytokines, lymphocytes, and neutrophils in severe COVID-19 show that those mediators promote tissue damage in both lung and gastrointestinal lining epithelium, kidneys microorganisms' proliferation (especially bacteria), and organ failure (Ganji et al., 2020; Brondani et al., 2020; Levi et al., 2020). Furthermore, in accordance with Poggiali et al. (2020), the C-reactive protein upregulation and LDH can be related with reduction of respiratory function of those patients. The fibrinogen is a mediator which favor the

increase of the blood coagulation and fibrin formation, inducing a potential risk to thrombosis (Connors and Levy, 2020; Iba et al., 2020).

The lung damage degree (mild, moderate, and severe) is associated with all damage in epithelium described previously. Although some patients from Ward presented some pulmonary involvement, the computed tomography (CT) showed bilateral pulmonary involvement with ground-glass opacities, consolidations and thickening of interlobular septa especially in patients from ICU. Guan et al. (2020), investigating 1099 patients, also observed that 74% of them presented abnormalities in chest CT, being the ground-glass opacities more prevalent (50%) than other findings. Same findings were described by Whu et al (2020) and Rodriguez-Morales et al (2020). These impairments in the lung lobes directly impact respiratory function and trigger Severe Acute Respiratory Syndrome (SARS), as was also observed in the ICU patients of this study (Arons et al., 2020; Chan et al., 2020; Kong and Agarwal, 2020; Polidoro et al., 2020).

The drugs nowadays used to treat the COVID-19 symptoms, do not have action against SARS-CoV-2 virus and can promote other side effects such as hepatotoxic and nephrotoxic actions triggered by corticoids and antibiotics (Mousavi et al., 2021; Ortiz et al., 2021; Feng et al., 2020).

As some patients in this study already had comorbidities such as diabetes, hypertension, chronic liver disease and acute/chronic kidney injury, it is possible that the side effects of these drugs have been potentiated, inducing the development of severe forms of these pre-existing diseases. This reasoning is associated with observational analysis of some thrombotic, coagulative, and nephrotoxic complications (with initiation of renal replacement therapy) that patients, especially in the ICU, started to present post-acute phase of COVID-19.

Risk factors for bacterial infections in patients with COVID-19 have been primarily associated with patients with prolonged hospitalization exposed to invasive devices such as catheters and tracheostomes (Sharifipour et al., 2020; Erdem et al., 2021). The results of this study point to a diversification of pathogenic species depending on the point of collection from the patient, with a prevalence for *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* e *Klebsiella pneumoniae*. In accordance with those findings, Fattorini et al. (2020) and Dumitru et al. (2021) also showed that the microorganisms more prevalent identified in patients with COVID-19 and have high resistance profile are *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Acinetobacter baumannii*.

Infections promoted by those pathogenic agents contributes with a worst diagnosis to interned patients and are able to complicate seriously the course of COVID-19, due to septicemia possibility (Hoque et al., 2021; Hosoda et al., 2021; Erdem et al., 2021). In fact, some studies shows that indiscriminate use of antibiotics such as ceftriaxone, doxycycline, and azithromycin for the treatment of COVID-19, even in the absence of obvious signs of bacterial infections, implicitly increases the rate of bacterial resistance (Dumitru et al., 2021; Ruiz, 2021; Sharifipour et al., 2020). In this case, it is inferred that it is necessary to be more careful in the medical clinic regarding the preponderant choice of drugs resistant to beta-lactamases and of broad spectrum, as is the case of carbapenemics such as imipenem and meropenem, in addition to third and fourth cephalosporins generation (Lai et al., 2021; Bahçe et al., 2022).

The major comorbidities found in this study, such as obesity and hypertension, are predisposing factors to the aggravation of COVID-19. Studies has been demonstrating that obese individuals have an accumulation of visceral adipose tissue that stimulates the production of pro-inflammatory interleukins such as $\text{TNF-}\alpha$ e IL-6 (in addition to reducing the action of all anti-inflammatory cytokines) by $\text{NF}\kappa\text{B}$ pathway, increase of C-reactive protein, atherosclerosis, hepatic disease, insulin resistance, and some cancer types (Reilly e Saltiel, 2017; Nimptsch et al., 2019; Barakat e Almeida, 2021; Zielinska et al., 2019).

Hypertension pathogenesis also is based on a pro-inflammatory microenvironment (Idris-Khodja et al., 2014). Studies has been showing that T lymphocytes are mediators of hypertension, since CD8^+ T lymphocytes and $\text{CD4}^+\text{Th1}^+$ T lymphocytes are accumulated in the blood vessel wall (inducing increase of cytokines release, reactive oxygen species (ROS) production, and activation of intercellular adhesion molecules (ICAM)), and in renal tubules (causing over-regulation of the renal sodium co-transporter and influencing water reabsorption by the kidneys) of hypertensive individuals (Drummond et al., 2019; Agita e Alsagaff, 2017; Liu et al., 2017).

In this sense, it is necessary to make the inference that the decrease in the count of lymphocyte sublines observed in this study, as well as the increase in the circulation of pro-inflammatory cytokines, may be correlated with these pre-existing diseases, potentiated, of course, by hyperinflammation. caused by the pathogenesis of COVID-19. Based on this principle, it is suggested that the control of glucose, lipids and blood pressure in the initial care of the COVID-19 patient seems to be essential for preventing the worsening of the disease.

5. CONCLUSION

6. ACKNOWLEDGEMENTS

REFERENCES

(JHU), Johns Hopkins University. COVID-19 Dashboard by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU). 2022. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>. Acesso em: 19 fev. 2022.

Abohamr, S. I., Abazid, R. M., Aldossari, M. A., Amer, H. A., Badhawi, O. S., Aljunaidi, O. M., ... & Elsheikh, E. (2020). Clinical characteristics and in-hospital mortality of COVID-19 adult patients in Saudi Arabia. *Saudi medical journal*, 41(11), 1217.

Agita, A., & Thaha, M. (2017). Inflammation, immunity, and hypertension. *Acta Medica Indonesiana*, 49(2), 158-165.

Algassim, A. A., Elghazaly, A. A., Alnahdi, A. S., Mohammed-Rahim, O. M., Alanazi, A. G., Aldhuwayhi, N. A., ... & Aljurf, M. D. (2021). Prognostic significance of hemoglobin level and autoimmune hemolytic anemia in SARS-CoV-2 infection. *Annals of hematology*, 100(1), 37-43.

Arons, M. M., Hatfield, K. M., Reddy, S. C., Kimball, A., James, A., Jacobs, J. R., ... & Jernigan, J. A. (2020). Presymptomatic SARS-CoV-2 infections and transmission in a skilled nursing facility. *New England journal of medicine*, 382(22), 2081-2090.

Bahçe, Y. G., Acer, Ö., & Özüdoğru, O. (2022). Evaluation of bacterial agents isolated from endotracheal aspirate cultures of Covid-19 general intensive care patients and their antibiotic resistance profiles compared to pre-pandemic conditions. *Microbial pathogenesis*, 105409.

Barakat, B., & Almeida, M. E. (2021). Biochemical and immunological changes in obesity. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 708, 108951.

Blomme, S., Smets, L., Van Ranst, M., Boeckx, N., & Van Laer, C. (2020). The influence of COVID-19 on routine hematological parameters of hospitalized patients. *Acta Clinica Belgica*, 1-6.

Brondani, G., Apollonio, L., Gremese, E., & Ferraccioli, G. (2020). Pulmonary intravascular coagulopathy in COVID-19 pneumonia. *The Lancet Rheumatology*, 2(8), e458.

Chan, J. F. W., Yuan, S., Kok, K. H., To, K. K. W., Chu, H., Yang, J., ... & Yuen, K. Y. (2020). A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. *The lancet*, 395(10223), 514-523.

Connors, J. M., & Levy, J. H. (2020). COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood*, 135(23), 2033-2040.

Djakpo, D. K., Wang, Z., Zhang, R., Chen, X., Chen, P., & Antoine, M. M. L. K. (2020). Blood routine test in mild and common 2019 coronavirus (COVID-19) patients. *Bioscience reports*, 40(8).

Drummond, G. R., Vinh, A., Guzik, T. J., & Sobey, C. G. (2019). Immune mechanisms of hypertension. *Nature Reviews Immunology*, 19(8), 517-532.

Dumitru, I. M., Dumitrascu, M., Vlad, N. D., Cernat, R. C., Ilie-Serban, C., Hangan, A., ... & Rugina, S. (2021). Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* associated with COVID-19. *Antibiotics*, 10(5), 561.

Erdem, H., Hargreaves, S., Ankarali, H., Caskurlu, H., Ceviker, S. A., Bahar-Kacmaz, A., ... & Rello, J. (2021). Managing adult patients with infectious diseases in emergency departments: international ID-IRI study. *Journal of Chemotherapy*, 33(5), 302-318.

Fattorini, L., Creti, R., Palma, C., & Pantosti, A. (2020). Bacterial coinfections in COVID-19: an underestimated adversary. *Annali dell'Istituto superiore di sanita*, 56(3), 359-364.

Feng, Y., Ling, Y., Bai, T., Xie, Y., Huang, J., Li, J., ... & Qu, J. (2020). COVID-19 with different severities: a multicenter study of clinical features. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 201(11), 1380-1388.

Ganji, A., Farahani, I., Khansarinejad, B., Ghazavi, A., & Mosayebi, G. (2020). Increased expression of CD8 marker on T-cells in COVID-19 patients. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 83, 102437.

Ghazanfari, T., Salehi, M. R., Namaki, S., Arabkheradmand, J., Rostamian, A., Chenary, M. R., ... & Faghihzadeh, S. (2021). Interpretation of hematological, biochemical, and immunological findings of COVID-19 disease: biomarkers associated with severity and mortality. *Iranian Journal of Allergy, Asthma and Immunology*, 20(1), 46-66.

Guan, W. J., Ni, Z. Y., Hu, Y., Liang, W. H., Ou, C. Q., He, J. X., ... & Zhong, N. S. (2020). Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *New England journal of medicine*, 382(18), 1708-1720.

Hoque, M. N., Akter, S., Mishu, I. D., Islam, M. R., Rahman, M. S., Akhter, M., ... & Hossain, M. A. (2021). Microbial co-infections in COVID-19: Associated microbiota and underlying mechanisms of pathogenesis. *Microbial pathogenesis*, 156, 104941.

Hosoda, T., Harada, S., Okamoto, K., Ishino, S., Kaneko, M., Suzuki, M., ... & Mizoguchi, M. (2021). COVID-19 and fatal sepsis caused by hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*, Japan, 2020. *Emerging infectious diseases*, 27(2), 556.

Huang, C., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Zhao, J., Hu, Y., ... & Cao, B. (2020). Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The lancet*, 395(10223), 497-506.

Iba, T., Levy, J. H., Connors, J. M., Warkentin, T. E., Thachil, J., & Levi, M. (2020). The unique characteristics of COVID-19 coagulopathy. *Critical Care*, 24(1), 1-8.

Idris-Khodja, N., Mian, M. O. R., Paradis, P., & Schiffrin, E. L. (2014). Dual opposing roles of adaptive immunity in hypertension. *European heart journal*, 35(19), 1238-1244.

Kalfaoglu, B., Almeida-Santos, J., Tye, C. A., Satou, Y., & Ono, M. (2021). T-cell dysregulation in COVID-19. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 538, 204-210.

Kang, C. K., Han, G. C., Kim, M., Kim, G., Shin, H. M., Song, K. H., ... & Oh, M. D. (2020). Aberrant hyperactivation of cytotoxic T-cell as a potential determinant of COVID-19 severity. *International Journal of Infectious Diseases*, 97, 313-321.

Kong, W., & Agarwal, P. P. (2020). Chest imaging appearance of COVID-19 infection. *Radiology: Cardiothoracic Imaging*, 2(1), e200028.

Lai, C. C., Chen, S. Y., Ko, W. C., & Hsueh, P. R. (2021). Increased antimicrobial resistance during the COVID-19 pandemic. *International journal of antimicrobial agents*, 57(4), 106324.

Levi, M., & Hunt, B. J. (2020). Thrombosis and coagulopathy in COVID-19: an illustrated review. *Research and practice in thrombosis and haemostasis*, 4(5), 744-751.

Li, G., Fan, Y., Lai, Y., Han, T., Li, Z., Zhou, P., ... & Wu, J. (2020a). Coronavirus infections and immune responses. *Journal of medical virology*, 92(4), 424-432.

Li, X., Geng, M., Peng, Y., Meng, L., & Lu, S. (2020b). Molecular immune pathogenesis and diagnosis of COVID-19. *Journal of pharmaceutical analysis*, 10(2), 102-108.

Lippi, G., & Mattiuzzi, C. (2020). Hemoglobin value may be decreased in patients with severe coronavirus disease 2019. *Hematology, transfusion and cell therapy*, 42, 116-117.

Liu, Y., Rafferty, T. M., Rhee, S. W., Webber, J. S., Song, L., Ko, B., ... & Mu, S. (2017). CD8⁺ T cells stimulate Na-Cl co-transporter NCC in distal convoluted tubules leading to salt-sensitive hypertension. *Nature communications*, 8(1), 1-14.

Lovato, A., & De Filippis, C. (2020). Clinical presentation of COVID-19: a systematic review focusing on upper airway symptoms. *Ear, Nose & Throat Journal*, 99(9), 569-576.

Mahroum, N., Alghory, A., Kiyak, Z., Alwani, A., Seida, R., Alrais, M., & Shoenfeld, Y. (2022). Ferritin—from iron, through inflammation and autoimmunity, to COVID-19. *Journal of autoimmunity*, 126, 102778.

Melo, C. M. D., Silva, G. A., Melo, A. R., & FREITAS, A. C. (2020). COVID-19 pandemic outbreak: the Brazilian reality from the first case to the collapse of health services. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 92.

Mousavi Movahed, S. M., Akhavizadegan, H., Dolatkhani, F., Nejadghaderi, S. A., Aghajani, F., Faghir Gangi, M., ... & Ghasemi, H. (2021). Different incidences of acute kidney injury (AKI) and outcomes in COVID-19 patients with and without non-azithromycin antibiotics: A retrospective study. *Journal of medical virology*, 93(7), 4411-4419.

Musuuza, J. S., Watson, L., Parmasad, V., Putman-Buehler, N., Christensen, L., & Safdar, N. (2021). Prevalence and outcomes of co-infection and superinfection with SARS-CoV-2 and other pathogens: a systematic review and meta-analysis. *PloS one*, 16(5), e0251170.

Nimptsch, K., Konigorski, S., & Pischon, T. (2019). Diagnosis of obesity and use of obesity biomarkers in science and clinical medicine. *Metabolism*, 92, 61-70.

Ortiz, M. E., Thurman, A., Pezzulo, A. A., Leidinger, M. R., Klesney-Tait, J. A., Karp, P. H., ... & Meyerholz, D. K. (2020). Heterogeneous expression of the SARS-Coronavirus-2 receptor ACE2 in the human respiratory tract. *EBioMedicine*, 60, 102976.

Pacha, O., Sallman, M. A., & Evans, S. E. (2020). COVID-19: a case for inhibiting IL-17?. *Nature Reviews Immunology*, 20(6), 345-346.

Parackova, Z., Zentsova, I., Bloomfield, M., Vrabcova, P., Smetanova, J., Klocperk, A., ... & Sediva, A. (2020). Disharmonic inflammatory signatures in COVID-19: augmented neutrophils' but impaired monocytes' and dendritic cells' responsiveness. *Cells*, 9(10), 2206.

Poggiali, E., Zaino, D., Immovilli, P., Rovero, L., Losi, G., Dacrema, A., ... & Terracciano, C. (2020). Lactate dehydrogenase and C-reactive protein as predictors of respiratory failure in CoVID-19 patients. *Clinica chimica acta*, 509, 135-138.

Polidoro, R. B., Hagan, R. S., de Santis Santiago, R., & Schmidt, N. W. (2020). Overview: systemic inflammatory response derived from lung injury caused by SARS-CoV-2 infection explains severe outcomes in COVID-19. *Frontiers in immunology*, 1626.

Rahman, Sayeeda, et al. "Epidemiology, pathogenesis, clinical presentations, diagnosis and treatment of COVID-19: a review of current evidence." *Expert review of clinical pharmacology* 14.5 (2021): 601-621.

Reilly, S. M., & Saltiel, A. R. (2017). Adapting to obesity with adipose tissue inflammation. *Nature Reviews Endocrinology*, 13(11), 633-643.

Rodriguez-Morales, A. J., Cardona-Ospina, J. A., Gutiérrez-Ocampo, E., Villamizar-Peña, R., Holguin-Rivera, Y., Escalera-Antezana, J. P., ... & Sah, R. (2020). Clinical, laboratory and imaging features of COVID-19: A systematic review and meta-analysis. *Travel medicine and infectious disease*, 34, 101623.

Ruiz, J. (2021). Enhanced antibiotic resistance as a collateral COVID-19 pandemic effect?. *Journal of Hospital Infection*, 107, 114-115.

Sharifipour, E., Shams, S., Esmkhani, M., Khodadadi, J., Fotouhi-Ardakani, R., Koohpaei, A., ... & Ej Golzari, S. (2020). Evaluation of bacterial co-infections of the respiratory tract in COVID-19 patients admitted to ICU. *BMC infectious diseases*, 20(1), 1-7.

Sharma, A., Ahmad Farouk, I., & Lal, S. K. (2021). COVID-19: A review on the novel coronavirus disease evolution, transmission, detection, control and prevention. *Viruses*, 13(2), 202.

Smilowitz, N. R., Kunichoff, D., Garshick, M., Shah, B., Pillinger, M., Hochman, J. S., & Berger, J. S. (2021). C-reactive protein and clinical outcomes in patients with COVID-19. *European heart journal*, 42(23), 2270-2279.

Sun, S., Cai, X., Wang, H., He, G., Lin, Y., Lu, B., ... & Hu, X. (2020). Abnormalities of peripheral blood system in patients with COVID-19 in Wenzhou, China. *Clinica chimica acta*, 507, 174-180.

Wu, J., Wu, X., Zeng, W., Guo, D., Fang, Z., Chen, L., ... & Li, C. (2020). Chest CT findings in patients with coronavirus disease 2019 and its relationship with clinical features. *Investigative radiology*, 55(5), 257.

Xu, Z., Shi, L., Wang, Y., Zhang, J., Huang, L., Zhang, C., ... & Wang, F. S. (2020). Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet respiratory medicine*, 8(4), 420-422.

Zhang, Y., Wang, X., Li, X., Xi, D., Mao, R., Wu, X., ... & Wu, D. (2020). Potential contribution of increased soluble IL-2R to lymphopenia in COVID-19 patients. *Cellular & molecular immunology*, 17(8), 878-880.

Zhu, N., Wang, W., Liu, Z., Liang, C., Wang, W., Ye, F., ... & Tan, W. (2020). Morphogenesis and cytopathic effect of SARS-CoV-2 infection in human airway epithelial cells. *Nature communications*, 11(1), 1-8.

Zielińska, A., Siwiński, P., Sobolewska-Włodarczyk, A., Wiśniewska-Jarosńska, M., Fichna, J., & Włodarczyk, M. (2019). The role of adipose tissue in the pathogenesis of Crohn's disease. *Pharmacological Reports*, 71(1), 105-111.