

Ministério da Saúde
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto René Rachou
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

ESTUDO CLINICOPATOLÓGICO DA COVID-19 FATAL

por
Gerdson Magno Barbosa

Belo Horizonte
2022

GERDSON MAGNO BARBOSA

ESTUDO CLINICOPATOLÓGICO DA COVID-19 FATAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde área de concentração Biologia Celular e Molecular.

Orientação: Prof. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier.

Belo Horizonte

2022

Catálogo-na-fonte
Rede de Bibliotecas da FIOCRUZ
Biblioteca do IRR
CRB 6 3740/00

B238e
2022

Barbosa, Gerdson Magno.

Estudo clinicopatológico da COVID-19 fatal/ Gerdson Magno Barbosa. – Belo Horizonte, 2022.

XVI, 107 f.: il.; 210 x 297mm.

Bibliografia: f. 95 - 100

Dissertação (mestrado) – Dissertação para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós - Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou. Área de concentração: Biologia Celular e Molecular.

1. COVID-19/mortalidade 2. SARS-CoV-2/complicações
3. COVID-19/prognóstico 4. Comorbidade I. Título. II. Xavier, Marcelo Antônio Pascoal (Orientação).

CDD – 22. ed. – 616.203

GERDSON MAGNO BARBOSA

ESTUDO CLINICOPATOLÓGICO DA COVID-19 FATAL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto René Rachou, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde área de concentração Biologia Celular e Molecular

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier (IRR/FIOCRUZ) Presidente

Prof. Dra. Gláucia Fernandes Cota (IRR/FIOCRUZ) Titular

Prof. Dr. Amaro Nunes Duarte Neto (USP) Titular

Prof. Dra. Rafaella Fortini Grenfell e Queiroz (IRR/FIOCRUZ) Suplente

Dissertação defendida e aprovada em Belo Horizonte, 30/06/2022

Dedico este trabalho a toda equipe de profissionais do CTI do Hospital Eduardo de Menezes - FHEMIG e a todas as famílias que, generosamente, contribuíram para este estudo.

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem”

Grande Sertão: Veredas

Guimarães Rosa

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Dr. Marcelo Antônio Pascoal Xavier pela oportunidade, pela disponibilidade, por toda motivação e pelos ensinamentos a mim proporcionados.

Agradeço ao Dr. Amaro Nunes Duarte Neto, à Dra. Glauca Fernandes Cota e à Dra. Rafaella Fortini Grenfell e Queiroz pela disponibilidade para compor a Banca Examinadora.

Agradeço aos colegas Neimy Ramos de Oliveira, Renata Eliane de Ávila, Rodrigo Macedo de Oliveira e Teresa Gamarano Barros pela contribuição e pela dedicação à produção deste estudo.

Agradeço aos colegas que se envolveram, participaram e contribuíram para a realização deste trabalho, atuaram na execução dos procedimentos minimamente invasivos, no processamento das amostras de tecidos biológicos e junto aos familiares dos participantes: Alex Froede Silva, Alexandre Mauricio Castro Bragato, Argus Leão Araújo, Gilcleria da Silva Ferreira, Giselle Almeida de Faria Tavares, Guilherme Lima Castro Silva, Hugo Leonardo Freitas de Sá, Hugo Mourão Oliveira, Indiara Penido, João Paulo Ramos Campos, Jônatas Eduardo Alves de Paula, Laila Gonçalves Machado, Larissa Ferreira Finamore Lopes, Ludmila de Paula, Priscila Agreli Soares, Ricardo Luiz Fontes Moreira, Tassia Lopardi Pereira, Tatiane Cristina Caldeira Gomes.

Agradeço aos pesquisadores do IDV – Imunologia de Doenças Virais do Instituto René Rachou, ao Programa INOVA FIOCRZ pelo Edital INOVA Geração de Conhecimento, ao Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG e aos profissionais do Hospital Eduardo de Menezes – FHEMIG pela fundamental colaboração neste estudo.

RESUMO

INTRODUÇÃO: Desde o aparecimento da COVID-19, numerosos estudos observacionais buscam o melhor entendimento e predição da síndrome respiratória aguda grave e da grave resposta inflamatória sistêmica por meio da associação com comorbidades, variáveis hematológicas, inflamatórias, bioquímicas e da coagulação, além da cinética da carga viral. Entretanto, permanecem lacunas no estudo clinicopatológico da COVID-19 fatal. Por isso, este estudo tem como objetivo apresentar uma análise dos fatores clínicos-demográficos e laboratoriais junto às lesões histopatológicas. **MÉTODOS:** Trata-se de estudo unicêntrico, observacional e transversal de 50 casos de COVID-19 que evoluíram a óbito e foram submetidos a autópsia minimamente invasiva. Dados clínicos-demográficos, laboratoriais e radiológicos foram acessados em revisões dos prontuários clínicos. **RESULTADOS:** A idade média foi de 65 anos e as comorbidades mais prevalentes foram hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus e obesidade. As principais alterações laboratoriais da admissão foram linfopenia, níveis aumentados de PCR, LDH, dímero-D, creatinina, ureia e razão $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ abaixo de 300 mmHg. As principais alterações laboratoriais observadas no dia do óbito foram leucocitose, neutrofilia, PCR elevada, insuficiência renal, razão $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ abaixo de 300 mmHg. A análise histopatológica mostrou acometimento inflamatório de múltiplos órgãos e os achados principais foram: dano alveolar difuso - DAD (64,4%), miocardite (36,2%), hepatite (71,4%) e nefrite intersticial (21,4%). O acometimento inflamatório de múltiplos órgãos mostrou correlação estatisticamente significativa com síndrome metabólica e DM (p 0,009 e p 0,005, respectivamente), 90% dos que apresentaram nefrite eram diabéticos (p 0,012); houve correlação entre miocardite e síndrome metabólica (p 0,001) e entre miocardite e obesidade (p 0,005). Entre os escores clínicos, o SOFA no quinto dia de internação apresentou associações com dano alveolar difuso – DAD - e resposta inflamatória em múltiplos órgãos - RIMO. Na análise discriminante, foram elaborados modelos preditivos com 71% e 72% de acurácia para DAD e RIMO, respectivamente. **CONCLUSÃO:** A presença de comorbidades e escores clínicos até o quinto dia de internação combinados com indicadores de lesão inflamatória podem ser mais sensíveis para predizer a COVID-19 fatal.

Palavras-chave: COVID-19; Evolução Fatal; Prognóstico; Comorbidade.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Since the emergence of COVID-19, there have been several studies seeking to better understand and predict severe acute respiratory syndrome and severe systemic inflammatory response by association with comorbidities, hematologic, inflammatory, biochemical, and coagulation variables, and viral load kinetics. However, gaps remain in the clinicopathological study of these prognostic factors in fatal COVID-19. Therefore, this study aims to present a relationship of clinical-demographic and laboratory prognostic factors with histopathological lesions.

METHODS: This is a single-center, observational, cross-sectional study of 50 cases who underwent minimally invasive autopsy. Clinical-demographic, laboratory, and radiological data were accessed in reviews of clinical records.

RESULTS: The mean age was 65 years, and the most prevalent comorbidities were hypertension, diabetes mellitus, and obesity. The main laboratory changes on admission were lymphopenia, increased levels of C - reactive protein, lactate dehydrogenase (LDH), D-dimer, creatinine, urea and PaO₂/FiO₂ ratio below 300 mmHg. The main laboratory alterations observed on the day of death were leukocytosis, neutrophilia, increased levels of C - reactive protein, renal failure and PaO₂/FiO₂ ratio below 300 mmHg. Histopathological analysis showed multiple organ inflammatory involvement and the main findings were diffuse alveolar damage - DAD (64.4%), myocarditis (36.2%), hepatitis (71.4%) and interstitial nephritis (21.4%). Multiple organ inflammatory showed statistically significant correlation with metabolic syndrome and DM (p 0.009 and p 0.005, respectively), 90% of those who had nephritis were diabetic (p 0.012); there was correlation between myocarditis and metabolic syndrome (p 0.001), myocarditis and obesity (p 0.005). Among the clinical scores, SOFA on the fifth day of hospitalization showed associations with DAD and multiple organ inflammatory. In the discriminant analysis, predictive models with 71% and 72% accuracy were developed for DAD and multiple organ inflammatory, respectively.

CONCLUSION: The presence of comorbidities and clinical scores by the fifth day of hospitalization combined with indicators of multiple inflammatory injury may be more sensitive for predicting fatal COVID-19.

Keywords: COVID-19; Fatal Outcome; Prognosis; Comorbidity.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Interface vascular-tecidual pulmonar proposta para o estado normal do pulmão e na COVID-19	22
Figura 2 – Evolução da infecção pelo SARS-CoV-2 e da COVID-19	27
Figura 3 – Gráficos de setores das principais lesões histopatológicas observadas nas autópsias minimamente invasivas. Ao lado de cada parte de setor estão indicados o n amostral e o seu respectivo percentual. DAD: Dano alveolar difuso.....	69
Figura 4 - Aspectos histopatológicos das autópsias minimamente invasivas.	70
Figura 5 – Gráfico de setor da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). Ao lado de cada parte de setor estão indicados o n amostral e o seu respectivo percentual.	71
Figura 6 – Gráfico de barras do percentual de relato de Diabetes Mellitus (DM2) pela ocorrência da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,005.....	72
Figura 7 – Gráfico de barras do percentual de relato de Diabetes Mellitus (DM2) pela ocorrência da Nefrite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,012.....	73
Figura 8 – Gráfico de barras do percentual de relato de síndrome metabólica (SMET) pela ocorrência da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,009.....	74
Figura 9 – Gráfico de barras do percentual de relato de síndrome metabólica (SMET) pela ocorrência de miocardite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,001.....	75
Figura 10 – Gráfico de barras do percentual de relato de obesidade pela ocorrência de miocardite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,005.	76
Figura 11 – Boxplots da proteína C reativa (PCR) no primeiro dia (D1) pela ocorrência de miocardite. A comparação das médias de PCR entre os grupos de miocardite, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, foi observado P-Value = 0,028.....	77

Figura 12 – Boxplots do escore APACHE II em 24h de internação intensiva pela ocorrência de DAD (a) e RIMO (b). A comparação das médias do escore APACHE II entre os grupos de DAD e de RIMO, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. DAD: Dano alveolar difuso. RIMO: Resposta inflamatória em múltiplos órgãos.....	78
Figura 13 – Boxplots do escore SOFA no primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5), sétimo (D7) e décimo (D10) dias de internação intensiva e no dia do óbito (D óbito) pela ocorrência de DAD. A comparação de todas as médias do escore SOFA entre os grupos de DAD, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, no D5, obteve P-Value = 0,055.....	79
Figura 14 – Gráfico de barras do percentual da categorização de SOFA no primeiro dia de internação intensiva (D1) pela ocorrência de DAD. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher não obteve diferença significativa. Entretanto, encontrou P-Value = 0,082.....	80
Figura 15 – Boxplots do escore SOFA no primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5), sétimo (D7) e décimo (D10) dias de internação intensiva e no dia do óbito (D óbito) pela ocorrência de RIMO. A comparação de todas as médias do escore SOFA entre os grupos de RIMO, pelo Teste t, encontrou diferença estatisticamente significativa no D5 (P-Value = 0,028). Nos demais dias, não foram observadas diferenças significativas.....	81
Figura 16 – Gráfico de barras do percentual da categorização de SOFA no primeiro dia de internação intensiva (D1) pela ocorrência de RIMO. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve diferença estatisticamente significativa (P-Value = 0,031). RIMO: Resposta inflamatória em múltiplos órgãos.	82
Figura 17 - Modelo preditivo para DAD	83
Figura 18 - Modelo preditivo para RIMO	85

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação aproximada entre APACHE II e mortalidade hospitalar para pacientes não cirúrgicos.....	34
Tabela 2 - Escore SOFA (Sequential Organ Failure Assessment Score)	37
Tabela 3 - Características gerais da amostra de 50 indivíduos falecidos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e submetidos a autópsias minimamente invasivas, no período de agosto de 2020 a abril de 2021, no CTI do Hospital Eduardo de Menezes, Minas Gerais, Brasil.....	54
Tabela 4 – Dados das primeiras 24 horas de admissão dos 50 indivíduos da amostra no hospital Eduardo de Menezes	56
Tabela 5 – Dados referentes ao período de internação dos 50 indivíduos da amostra no hospital Eduardo de Menezes	56
Tabela 6 - Resultados laboratoriais gerais da amostra de 50 participantes falecidos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e submetidos a autópsias minimamente invasivas, no período de agosto de 2020 a abril de 2021, no CTI do hospital Eduardo de Menezes, Minas Gerais, Brasil.....	58
Tabela 7 - Comparação dos dados laboratoriais de D1 e D óbito dos indivíduos do grupo estágio agudo (casos que tinham de 1 a 9 dias de sintomas na data da admissão hospitalar).....	60
Tabela 8 - Comparação dos dados laboratoriais em D1 e D óbito dos indivíduos do grupo estágio crítico (casos que tinham de 10 a 15 dias de sintomas na admissão hospitalar).....	62
Tabela 9 - Comparação de D1 do grupo estágio agudo e estágio crítico.....	64
Tabela 10 - Comparação do D óbito dos grupos estágio agudo e estágio crítico	66
Tabela 11 – Evolução do escore SOFA nas primeiras 96 horas de admissão no CTI do hospital Eduardo de Menezes, calculados para o primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5) dias de internação e para o dia do óbito (D óbito) dos indivíduos incluídos no estudo.	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACE2 –	Enzima Conversora de Angiotensina 2
ALT –	Transaminase Pirúvica
APACHE-II –	<i>Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II</i>
ARDS –	<i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
AST –	Transaminase Oxalacética
ATB –	Antibiótico
AVC –	Acidente Vascular Cerebral
CDC –	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CK –	Creatinofosfoquinase
COVID-19 –	<i>Coronavirus Disease 19</i>
CTI –	Centro de Terapia Intensiva
DAD –	Dano Alveolar Difuso
DM –	Diabetes Mellitus
DPOC –	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
ECG –	Escala de Coma de Glasgow
FA –	Fosfatase Alcalina
FHEMIG –	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
FIOCRUZ –	Fundação Oswaldo Cruz
Gama G.T. –	<i>Gama Glutamil Transferase</i>
GISAID –	<i>Global Initiative on Sharing All Influenza Data</i>
HAS –	Hipertensão Arterial Sistêmica
HEM –	Hospital Eduardo de Menezes
IHQ –	Imuno-histoquímica
IL –	Interleucina
IRAS –	Infecção Relacionada a Assistência à Saúde
LDH –	Desidrogenase Láctica
LSN –	Limite Superior da Normalidade
MERS-CoV –	<i>Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
MIA -	Autópsia Minimamente Invasiva
MIS-A –	<i>Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults</i>

O ₂ –	Oxigênio
OMS –	Organização Mundial de Saúde
PCR –	Proteína C Reativa
PCT –	Procalcitonina
PEEP –	<i>Positive End-Expiratory Pressure</i>
PNM –	Pneumonia
RASS –	<i>Richmond Agitation-Sedation Scale</i>
RIMO -	Resposta Inflamatória em Múltiplos Órgãos
RNA –	<i>Ribonucleic Acid</i>
RNI –	Razão Normalizada Internacional
RT-qPCR –	<i>Real Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction</i>
SARS-CoV –	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i>
SARS-CoV-2 –	<i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i>
SDRA –	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SES/MG –	Secretaria de Estado de Saúde de Minas Gerais
SMET –	Síndrome Metabólica
SMS/PBH –	Secretaria Municipal de Saúde / Prefeitura de Belo Horizonte
SOFA –	<i>Sequential Organ Failure Assessment Scores</i>
SRAG –	Síndrome Respiratória Aguda Grave
TCLE -	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TMPRSS2 –	<i>Transmembrane Serine Protease 2</i>
TNF- α –	Fator de Necrose Tumoral – alfa
TTP –	Tempo de Tromboplastina Parcial
UFMG –	Universidade Federal de Minas Gerais
UPA –	Unidade de Pronto Atendimento
VBM –	<i>Variants Being Monitored</i>
VMI –	Ventilação Mecânica Invasiva
VOC –	<i>Variants of Concern</i>
VOI –	<i>Variants of Interest</i>

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DA LITERATURA	17
2.1 O surgimento da pandemia da COVID-19	17
2.2 Aspectos epidemiológicos da COVID-19	17
2.3 Agente etiológico da COVID-19	18
2.4 Patogênese e anatomopatológico da COVID-19	20
2.5 Apresentação clínica da COVID-19	25
2.5.1 <i>Espectros clínicos da COVID-19</i>	25
2.5.2 <i>Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo – SDRA</i>	27
2.5.3 <i>Infecções concomitantes com COVID-19</i>	28
2.5.4 <i>Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Adultos - MIS-A - por COVID-19</i>	29
2.6 Apresentação da COVID-19 grave / crítica em CTI	30
2.7 Escores de gravidade/mortalidade na COVID-19	33
2.7.1 <i>APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II)</i>	34
2.7.2 <i>SOFA (Sequential Organ Failure Assessment Scores)</i>	35
3. JUSTIFICATIVA	38
4. OBJETIVOS	40
4.1 Objetivo geral	40
4.2 Objetivos específicos	40
5. POPULAÇÃO E METODOLOGIA	41
5.1 Aspectos éticos do estudo	41
5.2 Delineamento metodológico	41
5.2.1 <i>Desenho do estudo</i>	41
5.2.2 <i>Desfecho primário</i>	41
5.2.3 <i>Desfecho secundário</i>	41
5.2.4 <i>Tamanho da amostra</i>	42
5.3 População do estudo	42
5.3.1 <i>Critérios de inclusão</i>	42
5.3.2 <i>Critérios de exclusão</i>	42
5.4 Coleta dos dados, agrupamentos e escores clínicos	42
5.5 Autópsia minimamente invasiva e análises morfológicas	45

5.5.1 Procedimento minimamente invasivo	45
5.5.2 Preparação dos blocos de parafina e confecção das lâminas para estudo histológico.....	46
5.5.3 Sequência de etapas para preparação dos tecidos histológicos coletados por autópsia minimamente invasiva.....	47
5.5.4 Procedimento de imuno-histoquímica.....	49
5.5.5 Protocolo de imuno-histoquímica para COVID-19:	50
5.6 Análise estatística	51
6. RESULTADOS.....	53
6.1 Descrição da coorte.....	53
6.2 Perfil laboratorial.....	57
6.3 Escores prognósticos	67
6.4 Infecções concomitantes	67
6.5 Associação das lesões histopatológicas aos fatores prognósticos.....	68
6.5.1 Descrição das lesões histopatológicas e da imuno-histoquímica	68
6.5.2 Análise da idade, sexo, evolução e comorbidades (DM2, HAS, obesidade e síndrome metabólica [SMET])	71
6.5.3 Análise de biomarcadores laboratoriais selecionados (creatinina, ureia, dímero-D, LDH, leucócitos, linfócitos, neutrófilos, PCR e índice de oxigenação)	76
6.5.4 Análise dos escores prognósticos (APACHE II, SOFA).....	77
6.5.5 Modelos preditivos	83
7. DISCUSSÃO	86
8. CONCLUSÃO	94
REFERÊNCIAS.....	95
ANEXOS	101
ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa	102

1. INTRODUÇÃO

A doença pelo SARS-CoV-2, COVID-19, iniciou em Wuhan, na China, em dezembro de 2019, rapidamente se espalhou pelo planeta e em 11 de março de 2020 a Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou pandemia pela COVID-19 (CUCINOTTA; VANELLI, 2020). Até 10 de junho de 2022 foram mais de 500 milhões de casos de infecção pelo SARS-CoV-2 notificados à OMS e mais de 6 milhões de mortes em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Desde o aparecimento da COVID-19 na China, um número muito grande de trabalhos científicos desenvolvidos buscou o melhor entendimento da infecção e da história natural da doença pelo SARS-CoV-2. Estudos particularmente dedicados à predição da COVID-19 grave e crítica, fase da doença caracterizada por síndrome respiratória aguda grave e da resposta inflamatória sistêmica severa. Em conjunto, esses estudos, majoritariamente observacionais, determinaram associações entre comorbidades e variáveis hematológicas, inflamatórias, bioquímicas e da coagulação, além da cinética da carga viral, contribuindo enormemente para um melhor planejamento dos serviços de saúde e do atendimento aos doentes graves em todo o mundo. Entre os resultados mais relevantes, dados como idade avançada, sexo masculino, linfopenia, marcadores inflamatórios elevados (LDH, PCR, dímero-D), creatinina e ureia séricos aumentados e presença de comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica, diabetes e obesidade, foram associados ao risco aumentado de doença grave e morte (ZHENG *et al.*, 2020; RICHARDSON *et al.*, 2020; SETIATI *et al.*, 2020; GRASSELLI *et al.*, 2020; ÖNAL *et al.*, 2022). Entretanto, permanecem importantes lacunas no conhecimento dos mecanismos das principais lesões patológicas no curso da COVID-19 grave, em parte devido às limitações e restrições para realização de procedimentos clássicos de autópsia (LI *et al.*, 2005) e, conseqüentemente, ao reduzido número de estudos clinicopatológicos baseados na relação entre dados clínicos e histopatológicos. Por isso, o Estudo Clinicopatológico da COVID-19 Fatal tem como objetivo apresentar uma avaliação clínico-demográficas, laboratorial e as principais lesões histopatológicas observadas em doentes que evoluíram a óbito com COVID-19. Com esse propósito, indivíduos falecidos com COVID-19, que apresentaram critérios de inclusão no estudo, foram submetidos ao procedimento da autópsia minimamente invasiva (MIA) guiada por ultrassonografia portátil, uma técnica validada

e muito promissora para estudo e verificação anatomopatológica de óbitos por causas infecciosas (DUARTE-NETO *et al.*, 2019). Por meio da MIA, foram realizadas biopsias dos pulmões, coração, fígado, rins e baço para análises histopatológicas, cujos resultados foram associados aos dados clínicos-demográficos, laboratoriais e radiológicos registrados nos prontuários clínicos. Complementarmente, as lesões histopatológicas também foram associadas às pontuações dos escores clínicos SOFA e APACHE II (FERREIRA *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 1999; KNAUS *et al.*, 1985) que foram calculadas nos primeiros dias de admissão. Dessa forma, a realização do estudo constatou a relevância das comorbidades, dos dados clínicos e laboratoriais, dos escores clínicos padronizados durante a internação e da combinação desses dados junto aos principais achados histopatológicas para maior conhecimento da história evolutiva da COVID-19 fatal.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 O surgimento da pandemia da COVID-19

Em dezembro de 2019, a cidade de Wuhan, na China, reportou 27 casos de pneumonia de causa desconhecida (DENG; PENG, 2020). Por sequenciamento de RNA e isolamento viral de amostras de lavado bronco-alveolar de casos de pneumonia identificaram que o agente causador da doença era um novo beta-coronavírus (TAY *et al.*, 2020). O agente etiológico foi anunciado publicamente em 09 de janeiro de 2020 e sequências do genoma desse novo coronavírus foram lançadas em 12 de janeiro de 2020, na base de dados GISAID (HU *et al.*, 2021). A disseminação da infecção entre grupos de familiares e o rápido aumento do número de casos na população chinesa evidenciaram a transmissão entre humanos (TAY *et al.*, 2020). Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou o surto do novo coronavírus uma emergência de saúde pública de interesse internacional. O Comitê Internacional de Taxonomia de Vírus nomeou o novo coronavírus de SARS-CoV-2, a OMS nomeou a doença de COVID-19 em 11 de fevereiro de 2020 e em 11 de março de 2020 declarou a Pandemia da COVID-19 (HU *et al.*, 2021; CUCINOTTA; VANELLI, 2020).

2.2 Aspectos epidemiológicos da COVID-19

A infecção pelo SARS-CoV-2 pode acometer todas as faixas etárias e causar doença grave e morte em crianças e adultos. Mas, indivíduos acima de 60 anos, imunocomprometidos ou portadores de comorbidades, como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), obesidade, doenças pulmonares crônicas, doenças cardiovasculares crônicas, neoplasias, apresentam maior probabilidade de desenvolver formas graves e morte por COVID-19, como mostram os estudos abaixo.

Um grande estudo envolvendo mais de 1,3 milhão de casos confirmados de COVID-19 nos Estados Unidos mostrou que 14% dos pacientes necessitaram hospitalização, 2% foram internados em CTI e 5% morreram de COVID-19. Em pacientes com comorbidades a mortalidade foi 12 vezes maior e a necessidade de internação hospitalar foi 6 vezes maior que em pacientes sem comorbidades. A taxa de mortalidade foi maior nos indivíduos com idade acima de 70 anos, independentemente da presença de condições médicas crônicas. As comorbidades

mais comuns foram doenças cardiovasculares (32%), DM (30%) e doenças pulmonares crônicas (18%) (STOKES *et al.*, 2020).

Outro grande estudo, realizado na Suécia, mostrou que idade avançada, sexo masculino e comorbidades em geral foram associadas a doença grave e hospitalização por COVID-19 (BERGMAN *et al.*, 2021). Uma revisão sistemática da literatura e meta-análise envolvendo 13 estudos e 3027 participantes mostrou que sexo masculino, idade acima de 65 anos e tabagismo ativo foram fatores de risco para doença crítica ou fatal por COVID-19. Hipertensão arterial sistêmica, diabetes, doenças cardiovasculares e doenças respiratórias foram estatisticamente mais frequentes em pacientes críticos / falecidos por COVID-19, que em pacientes não críticos (ZHENG *et al.*, 2020). Um estudo coorte retrospectivo e observacional envolvendo 3988 doentes graves com COVID-19 encaminhados para CTI na região da Lombardia, Itália, apresentou mediana de idade de 63 anos, maioria do sexo masculino e 60,5% de 3300 doentes apresentavam pelo menos uma comorbidade. Na análise multivariada, idade avançada e sexo masculino foram significativamente associados à mortalidade. Entre as comorbidades, história de doença pulmonar obstrutiva crônica, hipercolesterolemia e diabetes, embora não fossem as comorbidades mais frequentes encontradas nesse estudo, foram independentemente associadas à mortalidade (GRASSELLI *et al.*, 2020). Outra revisão sistemática da literatura encontrou que idade > 60 anos, hipertensão arterial sistêmica, diabetes e doença coronariana são fatores de risco para forma grave de COVID-19 (SETIATI *et al.*, 2020). Um estudo envolvendo 5700 doentes internados em hospitais de Nova York, USA, com objetivo de descrever as características e desfechos clínicos de pacientes com COVID-19 hospitalizados, apresentou mediana de idade de 63 anos, maioria do sexo masculino e as comorbidades mais encontradas foram hipertensão arterial sistêmica (56,6%), obesidade (41,7%) e diabetes (33,8%) (RICHARDSON *et al.*, 2020).

2.3 Agente etiológico da COVID-19

Nos últimos 20 anos, dois coronavírus altamente patogênicos, com origem zoonótica, foram responsáveis por quadros de doenças graves e fatais em humanos conhecidas como síndrome respiratória aguda grave por coronavírus (SARS-CoV), no ano de 2002, e doenças respiratórias do Oriente Médio por coronavírus (MERS-CoV),

em 2012, tornando os coronavírus emergentes uma preocupação de saúde pública (HU *et al.*, 2021).

O SARS-CoV-2 é um beta-coronavírus com uma sequência genética muito semelhante ao SARS-CoV (79%) e ao RaTG13 (98%), um coronavírus de morcegos (TAY *et al.*, 2020). Com o MERS-CoV apresenta similaridade da sequência genética de 50% (HU *et al.*, 2021). Trata-se de um vírus envelopado e com genoma RNA. O envelope é revestido por glicoproteínas *Spike* (S), que se apresentam como projeções exteriorizadas aderidas ao envelope viral. O envelope também contém proteínas Envelope (E), Membrana (M) e em seu interior as proteínas Nucleocapsideo (N) (CEVIK *et al.*, 2020). A ligação do vírus à célula alvo hospedeira é mediada pela proteína S e subunidade S1 dessa proteína possui domínio de ligação ao receptor ACE2 (Enzima Conversora da Angiotensina 2) da célula do hospedeiro (HOFFMANN *et al.*, 2020). Foi demonstrado que proteases das células do hospedeiro participam da clivagem da proteína S viral e ativam a entrada do SARS-CoV-2 na célula alvo. Essas proteases incluem Protease Celular Transmembrana Serina 2 (TMPRSS2), Catepsina L e Furina (HOFFMANN *et al.*, 2020).

Como outros vírus de RNA, o SARS-CoV-2 está em constante evolução através de novas mutações. Potencialmente, mutações aleatórias podem aumentar ou diminuir a infecciosidade, a virulência e a capacidade do vírus evitar ou escapar às respostas imunes adaptativas e vacinal. São chamadas variantes de preocupação (VOC) as que apresentam características como maior transmissibilidade ou virulência. São variantes de SARS-CoV-2 em que vacinas, terapêuticas e testes diagnósticos podem ser prejudicados pelas mutações. São chamadas variantes de interesse (VOI), variantes que ainda não foram totalmente caracterizadas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Em setembro de 2021, os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) adicionaram uma nova designação nomeada variantes sendo monitoradas (VBM). As VBM são aquelas com potencial de impacto ou que foram associadas a doenças mais graves ou taxas de transmissão aumentadas, mas que não são mais detectadas ou que circulam em níveis muito baixos nos Estados Unidos (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2022; DENG; PENG, 2020).

2.4 Patogênese e anatomopatológico da COVID-19

O SARS-CoV-2 usa as proteínas ACE2 e TMPRSS2 para entrar na célula e essas proteínas são altamente expressas em células caliciformes nasais, células das vias aéreas e células pulmonares humanas. São expressas, também, em tecidos não respiratórios como epitélios renal, cardiovascular e gastrointestinal, células miocárdicas, células endoteliais arteriais e venosas e células musculares lisas arteriais (PEIRIS *et al.*, 2021; SUNGNAK *et al.*, 2020; HAMMING *et al.*, 2004). Genoma do SARS-CoV-2 foi detectado por RT-PCR em pulmão, coração, rim, trato gastrointestinal, fígado, cérebro. Ensaio de imuno-histoquímica detectaram antígeno de SARS-CoV-2 nas vias aéreas superiores, epitélio bronquiolar, pneumócitos tipo I e tipo II, macrófagos alveolares, células endoteliais (CARAMASCHI *et al.*, 2021).

Estudos citados no tópico 2.2 “Aspectos epidemiológicos da COVID-19” mostraram que, entre outros fatores de risco, o sexo masculino foi mais acometido pela forma grave da COVID-19 e apresentou maior mortalidade. Os mecanismos de maior morbidade e mortalidade entre os homens permanecem pouco esclarecidos e mais estudos são necessários. Estudos mostram que diferenças sexuais e hormonais influenciam a resposta imune e que o sexo masculino apresenta maiores níveis de citocinas e quimiocinas plasmáticas da resposta imune inata (TAKAHASHI *et al.*, 2020). Outro ponto é que o sexo masculino e o tabagismo foram associados à expressão aumentada de ACE2 nas vias aéreas inferiores e à maior gravidade da infecção pelo SARS-CoV-2 (CAI, 2020).

Ao entrar na célula, o vírus desencadeia uma resposta inflamatória inicial direcionada para o local da infecção e, na grande maioria dos casos, as células infectadas são eliminadas antes do vírus se espalhar, promovendo resolução da infecção. Presumivelmente, a lesão pulmonar pode resultar do efeito citopático direto do vírus nas células pulmonares, desencadeando a resposta inflamatória e liberação de citocinas por células endoteliais lesadas e macrófagos ativadas. As células endoteliais e os macrófagos são importantes produtores de citocinas. Alguns pacientes podem desenvolver uma resposta inflamatória exacerbada ao SARS-CoV-2 e apresentar formas graves da COVID-19 (PEIRIS *et al.*, 2021; JACKSON; DARBOUSSET; SCHOENWAELDER, 2019).

Achados histopatológicos evidenciaram que o principal órgão afetado na COVID-19 é o pulmão e mediadores inflamatórios, como interleucinas (por exemplo,

II-6), são mais expressivos nos fluidos respiratórios do que no soro. Autópsias de pulmões mostram, como principal achado, injúria inflamatória com dano alveolar difuso bilateralmente (PEIRIS *et al.*, 2021).

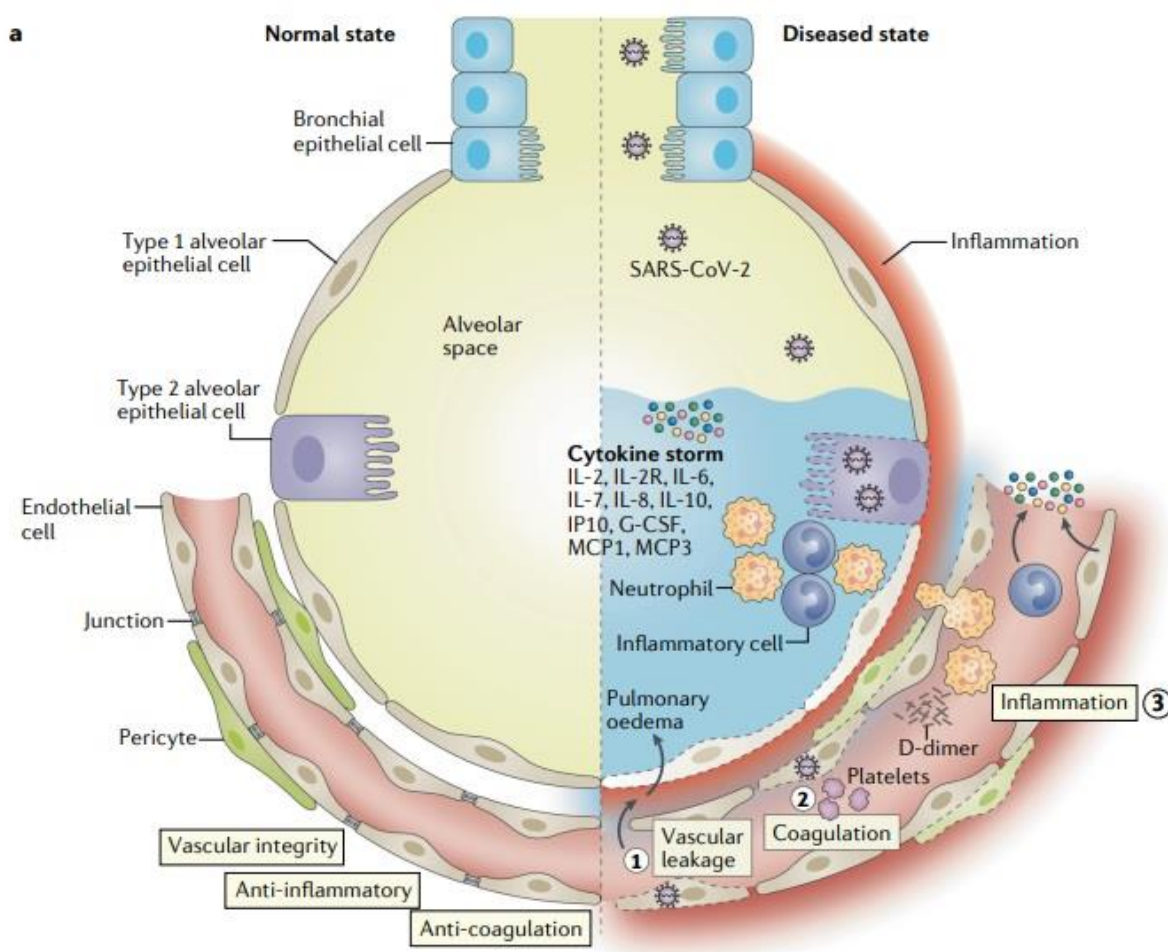
Dano alveolar difuso (DAD) é caracterizado por congestão capilar, edema intersticial, inflamação exudativa, infiltrado inflamatório mononuclear bilateral, formação de membrana hialina que reveste a superfície dos alvéolos, atelectasia, hemorragia intra-alveolar, descamação celular e depósito de fibrina (TEUWEN *et al.*, 2020; PEIRIS *et al.*, 2021),

A resposta inicial à injúria, fase exsudativa do DAD, ocorre na primeira semana e se deve ao dano às barreiras endotelial e epitelial alveolar mediado por células da resposta imune inata. Esse processo resulta em edema pelo acúmulo de fluido rico em proteínas dentro do interstício e da superfície dos alvéolos. Os macrófagos alveolares são ativados e secretam citocinas pró-inflamatórias que recrutam neutrófilos, monócitos, macrófagos e ativam células epiteliais alveolares e células T efetoras, perpetuando a inflamação e a lesão tecidual. A ativação endotelial e a lesão microvascular contribuem para a ruptura da barreira endotelial-epitelial alveolar, agravando o dano. A amplificação do processo de lesão endotelial pode levar à perda da função antitrombótica e anti-inflamatória do endotélio normal. Com a disfunção endotelial, ocorre ativação plaquetária e de complemento e acúmulo de leucócitos na microvasculatura. Os processos de reparo começam durante a segunda fase do DAD, fase de organização/proliferação a partir da segunda semana após a injúria inicial, caracterizada por proliferação intersticial de fibroblastos, miofibroblastos e vasos, hiperplasia de pneumócitos tipo II e metaplasia escamosa. Uma vez restabelecida a integridade epitelial, a reabsorção do edema alveolar pode restaurar a arquitetura e a função alveolar. A fase fibrótica do DAD não ocorre em todos os pacientes e pode ser associada a ventilação mecânica prolongada, sequelas pulmonares e mortalidade. Todo o processo inflamatório pode alterar a estrutura funcional pulmonar e, também, tornar o pulmão susceptível a infecções secundárias devido à quebra da integridade da barreira epitelial (PEIRIS *et al.*, 2021; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). A presença de um estado de hipercoagulabilidade em pacientes com COVID-19 é apoiada pela presença de produtos de degradação da fibrina e dímero-D aumentados, microtromboses em diferentes órgãos e alta incidência de eventos tromboembólicos. A coagulopatia no contexto de lesão pulmonar é um dos aspectos importantes do DAD

e explicada pela ativação da via extrínseca (TF - Fator Tecidual) devido a lesão tecidual e a via intrínseca (independente do TF) (PEIRIS *et al.*, 2021).

A Figura 1 representa as interações vascular-tecidual pulmonar em pulmão saudável e na COVID-19 (Adaptada de TEUWEN *et al.*, 2020).

Figura 1 – Interface vascular-tecidual pulmonar proposta para o estado normal do pulmão e na COVID-19



À esquerda está representada a interface normal entre o espaço alveolar e as células endoteliais; à direita são apresentadas as características da doença COVID-19 no pulmão, incluindo perda da integridade vascular (1), ativação da via de coagulação (2) e inflamação (3).

Fonte: Adaptado de TEUWEN *et al.* (2020).

No início de 2020 foi realizado um importante estudo anatomopatológico no Brasil, conduzido por Duarte-Neto *et al.* (2020). Amostras de tecidos de vários órgãos foram obtidas por autópsias minimamente invasivas, guiadas por ultrassonografia, e incluiu 10 indivíduos falecidos com COVID-19. As amostras foram submetidas a

estudo histopatológico e RT-PCR para detecção de SARS-CoV-2. A mediana de idade dos casos foi de 69 anos, a mediana de tempo do início dos sintomas à admissão hospitalar foi de 4,5 dias e a mediana de duração da doença foi de 10 dias (intervalo de 3 a 16 dias). As comorbidades mais frequentes foram HAS, DM e cardiopatia isquêmica crônica. Todos apresentaram desconforto respiratório grave por COVID-19, 3 faleceram nas primeiras 24 horas de hospitalização e os demais foram admitidos em CTI para VMI. Todos os casos apresentaram dano alveolar difuso (DAD) exudativo/proliferativo, caracterizado principalmente por exudato alveolar intenso e difuso, membrana hialina, edema septal e infiltração linfocítica leve a moderada. Havia alterações pleomórficas nas células epiteliais alveolares, sugestivas de efeitos citopáticos viral, com descamação epitelial difusa. As alterações epiteliais incluíam citoplasma aumentado e distorcido, núcleos grandes, nucléolos eosinofílicos, células gigantes e focos de metaplasia alveolar escamosa que se estendiam pelas vias aéreas e tecido alveolar. O DAD proliferativo foi caracterizado por tecido fibroso mal organizado nos septos alveolares e no lúmen alveolar, mais prevalente nos indivíduos com cursos prolongados da doença. Presença de trombos nas arteríolas alveolares (8 indivíduos) e alta densidade de megacariócitos alveolares. Seis indivíduos apresentaram pneumonia supurativa secundária. Os achados extrapulmonares foram atribuídos a comorbidades como HAS e DM e caracterizados como esclerose de arteríolas renais (10 indivíduos), hipertrofia de cardiomiócitos (9 indivíduos), fibrose de miocárdio (9 indivíduos), esclerose glomerular focal (7 indivíduos), esteatose hepática (6 indivíduos), doença de pequenos vasos cerebrais (3 indivíduos). Achados atribuídos ao choque, como congestão hepática centrolobular (10 indivíduos) e lesão tubular renal aguda (em todas 8 amostras renais). Achados de etiologias incertas, podendo ser secundários a infecção pelo SARS-CoV-2, inflamação sistêmica ou choque e caracterizados como infiltrado mononuclear perivascular superficial na pele, miosite, orquite, miocardite linfomononuclear leve, alterações endoteliais de pequenos vasos, hipoplasia linfóide no baço, glomerulopatia mesangial, células hepáticas de Kupffer reativas e microtrombos de fibrina em glomérulos, pele, sinusóides hepáticos e coração (DUARTE-NETO *et al.*, 2020).

Um artigo de revisão de 58 estudos, com 662 indivíduos incluídos, teve mediana de idade de 70 anos, 68% do sexo masculino e as comorbidades mais frequentes foram: HAS, DM, doença cardiovascular, obesidade e doenças pulmonar crônica. Os achados anatomopatológicos gerais principais encontrados foram: dano

alveolar difuso (DAD), lesão endotelial, trombos em múltiplos órgãos, lesão por choque em múltiplos órgãos. Foram descritas lesões pulmonares por COVID-19 em 263 indivíduos, sendo DAD o principal achado. Efeito citopático viral foi descrito em pneumócitos e células epiteliais alveolares. O SARS-CoV-2 foi detectado em 48 de 53 pulmões por RT-PCR, 29 de 43 por imuno-histoquímica (IHQ), 13 de 23 por hibridização in situ (ISH), 3 de 8 por *Next-Generation Sequencing* (NGS), e 6 de 6 por cultura. Proteína viral foi detectada principalmente na fase de DAD agudo. Usando RT-PCR, maior número de cópias de RNA foram detectados no tecido pulmonar do que no cérebro, coração, testículos e rins. Estudo histológico cardíaco de 184 indivíduos teve como achados agudos atribuídos à COVID-19: miocardite, necrose de miócitos, infiltrado linfocítico epicárdico, endotelite linfocítica, infiltrado linfocítico e macrófagos intersticiais, microtrombos na microvasculatura. Material genético viral foi detectado por RT-PCR em 39 de 66 indivíduos. HIQ foi realizada em 1 caso e foi negativa. Estudo histológico renal de 189 indivíduos teve como achados associados a COVID-19: lesão tubular aguda, dilatação tubular, descamação de células epiteliais, debris luminais e vacuolização citoplasmática, necrose cortical franca, cilindros tubulares pigmentados / rabdomiólise, pielonefrite aguda, microangiopatia trombótica com lesão endotelial e trombo glomerular ou arteriolar. RNA viral foi positivo em 8 de 15 indivíduos por RT-PCR. HIQ mostrou proteína viral nos túbulos renais em 3 de 32 indivíduos. Dados histológicos de fígado de 164 indivíduos apresentaram, com maior frequência, congestão centrolobular, que pode ser atribuída a choque, esteatose hepática leve a moderada macrovesicular e centro lobular, provavelmente associados a DM e obesidade, necrose de hepatócitos em 23 casos, hepatócitos apoptóticos, infiltrado linfocítico periportal leve a moderado, colestase com tampões biliares canaliculares e pleomorfismo nuclear de colangiócitos. RT-PCR para SARS-CoV-2 foi positivo em 10 de 31 indivíduos, com títulos elevados em 6 casos. Dados de baço de 161 indivíduos teve entre os achados: depleção de linfócitos, necrose parenquimatosa, atrofia de polpa branca, congestão, hemorragia, infarto, vasculite e trombose arterial, esplenite aguda, infiltração de neutrófilos e hemofagocitose. Manifestações histológicas de SNC mostraram principalmente alterações crônicas. As principais manifestações agudas foram lesão hipóxica aguda, encefalite, meningite linfocítica, sangramento petequial, lesão degenerativa axonal. Sinais de doenças crônicas como áreas de fibrose cardíaca, esteatose hepática macrovesicular e

centrolobular, nefropatia diabética e hipertensiva foram encontradas (CARAMASCHI *et al.*, 2021).

Outra revisão de literatura avaliou 75 estudos e 603 casos de COVID-19, com mediana de idade de 68 anos, 70,9% masculinos e as comorbidades mais frequentes foram: HAS, DM, doença cardiovascular e obesidade. Nos pulmões os achados mais comuns foram dano alveolar difuso em 92% dos casos e broncopneumonia aguda sobreposta em 27%. No fígado, hepatite em 21%. No coração, miocardite em 11,4%. Microtrombos descritos em placenta (57,9%), pulmão (38%), rim (20%), sistema nervoso central (18%) e trato gastrointestinal (2%). Alterações de células endotelial em pulmão (18%) e coração (4%). Alterações hemodinâmicas, como hipóxia e congestão, foram comuns no rim (53%), fígado (48%), SNC (31%) e TGI (18%). Partículas do vírus SARS-CoV-2 foram demonstradas em células específicas dos órgãos na traqueia, pulmão, fígado, intestino grosso, rim, SNC (PEIRIS *et al.*, 2021).

2.5 Apresentação clínica da COVID-19

O SARS-CoV-2 é transmitido principalmente através de partículas respiratórias e o período médio de incubação, após infecção pelo vírus, é de 4 dias (variação de 2 a 7 dias), podendo durar até 14 dias (HU *et al.*, 2021; GUAN *et al.*, 2020). Os infectados podem começar a transmitir o vírus 1 a 3 dias antes do início dos sintomas. Altos níveis virais estão presentes na nasofaringe imediatamente antes do início dos sintomas e nos primeiros dias seguintes. Esses níveis virais caem no período de 1 a 2 semanas (CEVIK *et al.*, 2020). Os anticorpos aumentam gradualmente a partir da primeira semana de infecção e geralmente são detectáveis no 14º dia em diante (CEVIK *et al.*, 2020).

2.5.1 Espectros clínicos da COVID-19

O espectro clínico da infecção / doença pelo SARS-CoV-2 pode variar de infecção assintomática a pneumonia grave, síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e morte. A doença grave geralmente se desenvolve a partir do 8º dia após o início dos sintomas e doença crítica e a morte ocorre em aproximadamente 16 dias (HU *et al.*, 2021).

Estudo na China com 72.314 indivíduos infectados com COVID-19 mostrou que 81% apresentaram doença leve (definidos neste estudo como ausência de pneumonia ou pneumonia leve). Casos graves foram 14% (definidos como dispneia, frequência respiratória ≥ 30 respirações / minuto, saturação de $O_2 \leq 93\%$, razão entre a pressão parcial arterial de oxigênio e a fração inspirada de oxigênio $[PaO_2/FiO_2] < 300$ mmHg, infiltrados pulmonares $> 50\%$ do parênquima pulmonar dentro de 24 a 48 horas). Casos críticos foram 5%, definidos como insuficiência respiratória, choque séptico e/ou disfunção ou falha de múltiplos órgãos (WU; MCGOOGAN, 2020).

O *National Institutes of Health, COVID-19 Treatment Guidelines* (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2022), classifica os espectros clínicos da infecção pelo SARS-CoV-2 / COVID-19 em:

Infecção assintomática ou pré-sintomática: apresenta teste virológico positivo para SARS-CoV-2 (teste de amplificação de ácido nucleico ou teste de antígeno), mas sem sintomas clínicos de COVID-19.

Doença leve: apresenta sinais e sintomas inespecíficos como febre, tosse, dor de garganta, mal-estar, dor de cabeça, dor muscular, náusea, vômito, diarreia, perda de paladar e olfato, mas sem esforço respiratório, sem dispneia ou alterações radiológicas.

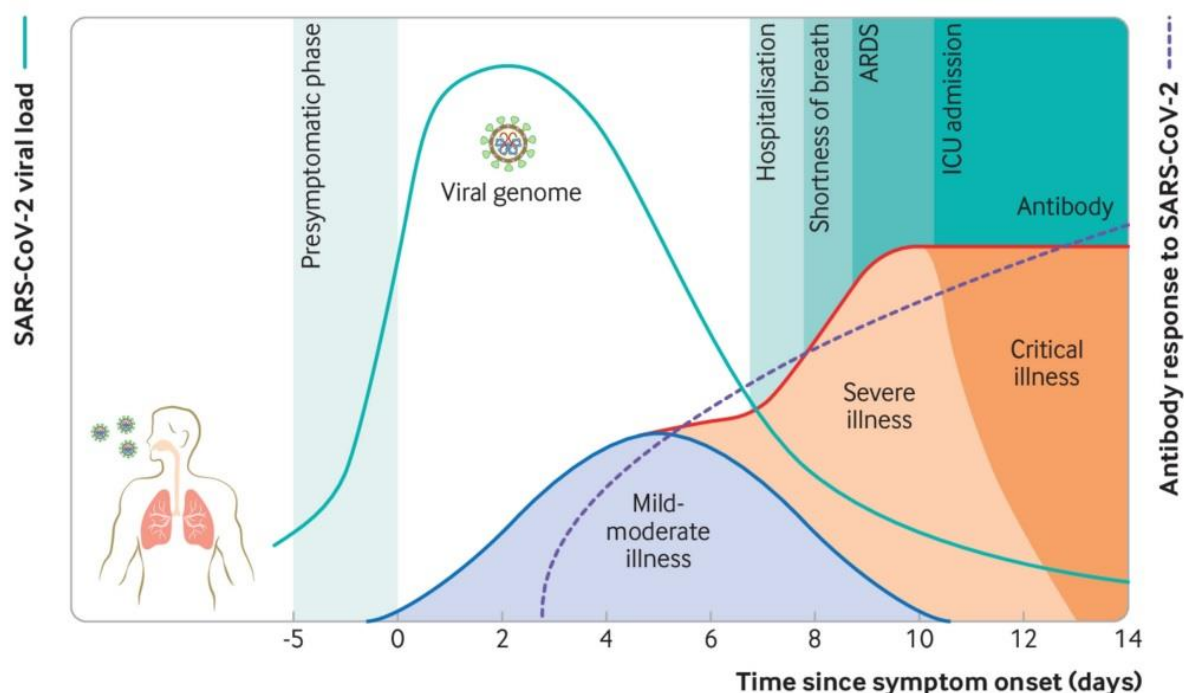
Doença moderada: apresenta evidências de acometimento respiratória inferior à avaliação clínica ou de imagem, tomografia de tórax apresenta infiltrado pulmonar $< 50\%$ do parênquima pulmonar, saturação de oxigênio (SpO_2) $\geq 94\%$ em ar ambiente.

Doença grave: apresenta $SpO_2 < 94\%$ em ar ambiente, $PaO_2/FiO_2 < 300$ mmHg, frequência respiratória > 30 respirações / minuto ou infiltrados pulmonares $> 50\%$ do parênquima pulmonar dentro de 24 a 48 horas. Esses pacientes podem apresentar rápida deterioração clínica.

Doença crítica: apresenta insuficiência respiratória, choque séptico, disfunção de múltiplos órgãos.

A Figura 2 representa a evolução temporal da infecção pelo SARS-CoV-2 e da COVID-19 (CEVIK *et al.*, 2020).

Figura 2 – Evolução da infecção pelo SARS-CoV-2 e da COVID-19



Fonte: Adaptado de CEVIK *et al.* (2020).

As imagens de tórax dos pacientes com COVID-19 variam de normais, principalmente no início da infecção, a frequentes opacidades multifocais bilaterais e opacidades em vidro fosco periféricas, em graus variados, podendo evoluir para consolidações pulmonares extensas (SHI *et al.*, 2020).

2.5.2 Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo – SDRA

A síndrome do desconforto respiratório aguda (SDRA) é uma lesão pulmonar inflamatória aguda, difusa, que causa aumento da permeabilidade vascular e do peso pulmonar por edema inflamatório e conseguinte perda de tecido pulmonar aerado. As características clínicas da SDRA são hipoxemia e opacidades radiográficas bilaterais associadas a diminuição da complacência pulmonar. A marca morfológica da fase aguda é o dano alveolar difuso (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017).

Os fatores de risco para SDRA têm evolução aguda. Podem ser pneumonias (bacteriana, viral, fúngica), aspiração de conteúdo gástrico, contusão pulmonar, injúria inalatória, sepse, choque (hemorrágico, por exemplo), trauma não pulmonar, grande queimado, overdose de drogas, transfusão de derivados de sangue, fatores que

causam resposta inflamatória aguda. Pneumonia, aspiração de conteúdo gástrico e sepse somam 85% das causas de SDRA. Quadros que mimetizam SDRA têm evolução mais indolente e são, por exemplo, insuficiência cardíaca, doença pulmonar intersticial, como pneumonia de hipersensibilidade e pneumonia intersticial aguda, hemorragia alveolar difusa por vasculites, doença pulmonar induzida por drogas como amiodarona, carcinoma metastático, tuberculose endobronquial, doenças do tecido conectivo (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017).

O diagnóstico da SDRA é feito usando os critérios de Berlim e considera 3 itens: 1) Início agudo, até 7 dias da lesão desencadeante. 2) Grau de hipoxemia, avaliado em pressão expiratória final positiva (PEEP) mínima. A PEEP pode afetar marcadamente a PaO_2/FiO_2 , portanto, um nível mínimo de PEEP (5 cmH₂O), que pode ser administrado de forma não invasiva na SDRA leve, foi incluído na definição de SDRA. 3) Opacidades pulmonares confluentes, difusas, com uma silhueta cardiotorácica estreita (sugerindo edema não cardiogênico) na radiografia de tórax ou tomografia. Edema hidrostático na forma de insuficiência cardíaca ou excesso de fluido podem coexistir com SDRA, desde que a insuficiência respiratória não seja totalmente explicada por falha de bomba cardíaca ou sobrecarga de fluido. PEEP e/ou ECO podem ajudar a elucidá-los (ARDS DEFINITION TASK FORCE, *et al.* 2012; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017).

De acordo com o grau de hipoxemia, a SDRA é estratificada como (ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.*, 2012):

- Leve: razão PaO_2/FiO_2 de 201 – 300mmHg, mortalidade de 27%;
- Moderada: razão PaO_2/FiO_2 de 101 – 200mmHg, mortalidade de 32%;
- Grave: razão $PaO_2/FiO_2 \leq 100$ mmHg, mortalidade de 45%.

O correlato histológico da SDRA é o “dano alveolar difuso - DAD”. No entanto, a definição de Berlim tem baixa especificidade para DAD. No exame post mortem, 40% a 58% dos pacientes com diagnóstico clínico de SDRA moderada a grave tinham DAD. Edema Agudo de Pulmão e pneumonia sem membrana hialina são achados comuns mimetizados de SDRA (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017).

2.5.3 Infecções concomitantes com COVID-19

Doentes com COVID-19 podem apresentar coinfeções comunitárias associadas ou desenvolver coinfeções durante o curso da doença. Pessoas mais

velhas, com comorbidades e/ou imunocomprometidos apresentam maior risco. Uma revisão de literatura avaliou 806 doentes com COVID-19 e mostrou que uma grande parcela recebeu tratamento antimicrobiano empírico, enquanto apenas 62 (8%) tiveram coinfeção bacteriana / fúngica firmadas durante admissão hospitalar (RAWSON *et al.*, 2020). Uma revisão sistemática e meta-análise com 3834 doentes hospitalizados com COVID-19 mostrou que 7% tiveram coinfeção bacteriana, percentual que aumentou para 14% em estudos que incluíram somente pacientes em terapia intensiva (LANSBURY *et al.*, 2020). Outro estudo envolvendo 3028 doentes com COVID-19 identificou coinfeções comunitárias em 6% e infecção relacionada a assistência à saúde (IRAS), confirmadas microbiologicamente, em 12%. Infecções fúngicas em 2,19% dos 3028 pacientes. Nesse estudo, das IRAS, 57% foram causadas por bactérias gram negativas e 19% por fungos. A imensa maioria dos fungos presentes nas hemoculturas foram espécies de *Cândida*. Ventilação mecânica invasiva, internação prolongada, internação em CTI e uso de esteroides foram preditores independentes de IRAS em pacientes hospitalizados com COVID-19 (KUBIN *et al.*, 2021).

Um estudo de coorte prospectiva, multicêntrica, envolvendo 135 adultos em cuidados de terapia intensiva, com objetivo de determinar a incidência, os fatores de risco e o impacto da doença fúngica invasiva em adultos com COVID-19 e desconforto respiratório grave encontrou incidência de 14,1% de Aspergilose Pulmonar Associada a COVID-19. Essas infecções são observadas principalmente em pacientes imunocomprometidos, usuários de corticoides, portadores de doença respiratória crônica e em pacientes sob ventilação mecânica em unidade de terapia intensiva (WHITE *et al.*, 2021).

2.5.4 Síndrome Inflamatória Multissistêmica em Adultos - MIS-A - por COVID-19

Um quadro sistêmico denominado síndrome inflamatória multissistêmica em adultos (MIS-A) foi descrito. Um estudo envolvendo 221 doentes com MIS-A teve mediana de idade de 21 anos (variação de 19 – 34 anos), 70% do sexo masculino e cerca de metade dos doentes não tinham histórico de comorbidades. Os sinais e sintomas mais frequentes foram febres, hipotensão, alterações cardíacas, dispneia e diarreia. Total de 7% evoluíram a óbito. A maioria dos doentes tinha elevação de marcadores inflamatórios, distúrbio da coagulação e teste sorológico positivo para

SARS-CoV-2 (PATEL *et al.*, 2021). São doentes com evidência de infecção por SARS-CoV-2 documentada por teste molecular, teste de antígeno ou de anticorpo, apresentam marcadores laboratoriais de inflamação aumentados (proteína C reativa, ferritina, dímero-D, enzimas cardíacas, enzimas hepáticas e creatinina), apresentam vários sinais e sintomas como febre, sinais cardiovasculares, gastrointestinais, dermatológicas e neurológicas, mas com sintomas respiratórios mínimos (HU *et al.*, 2021).

A MIS-A é definida pelos seguintes critérios (HU *et al.*, 2021):

1. Doença grave em indivíduo com idade ≥ 21 anos;
2. Infecção atual ou passada com SARS-CoV-2;
3. Disfunção grave em um ou mais sistemas de órgãos extrapulmonares;
4. Evidência laboratorial de marcadores inflamatórios elevados (por exemplo, PCR, ferritina, dímero-D, interleucina 6);
5. Ausência de doença respiratória grave; e
6. Ausência de um diagnóstico alternativo.

Os achados sugerem que a MIS-A é uma condição hiperinflamatória grave, com disfunções de múltiplos órgãos extrapulmonares, que se apresenta aproximadamente 4 semanas após início de um quadro de COVID-19 aguda (PATEL *et al.*, 2021).

2.6 Apresentação da COVID-19 grave / crítica em CTI

À medida que a pandemia avançou, vários fatores como idade > 60 anos, sexo masculino e presença de comorbidades foram associados ao risco aumentado de doença grave e morte na COVID-19. Parâmetros laboratoriais como linfopenia, neutrofilia, creatinina sérica aumentada, troponina I cardíaca hipersensível aumentada, alterações associadas ao estado inflamatório como proteína C reativa (PCR), lactato desidrogenase (LDH), ferritina, dímero-D e procalcitonina aumentados e dados de oxigenação, como razão $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ diminuída, foram identificados como fatores de mau prognóstico, como apresentam os estudos citados abaixo. Escores usados anteriormente em unidades de terapia intensiva para estimar

gravidade / mortalidade, como APACHE II e SOFA, foram avaliados para doentes com COVID-19, como mostrado abaixo.

Em uma revisão sistemática da literatura, Zheng *et al.* (2020) mostraram que os sintomas de falta de ar e dispneia foram associados com a progressão para doença crítica ou fatal (ZHENG *et al.*, 2020). Dispneia foi o único sintoma preditor para doença grave e admissão em CTI em uma revisão de literatura que incluiu 1813 doentes com COVID-19 (AIN; YUAN, 2020). Dispneia é uma indicativa de envolvimento pulmonar e doença mais grave, mas há relatos de "hipóxia silenciosa" em que as saturações de oxigênio podem cair e precipitar insuficiência respiratória aguda na ausência de dispneia ou outros sintomas respiratórios expressivos (GATTINONI *et al.*, 2020).

Sobre achados laboratoriais, a revisão sistemática da literatura e meta-análise feita por Zheng *et al.* (2020) encontrou que AST, creatinina sérica, troponina I cardíaca hipersensível, procalcitonina, LDH e dímero-D aumentados foram associados a progressão para doença grave por COVID-19, enquanto leucócitos $< 4 \times 10^9/L$ significou melhor resultado clínico (ZHENG *et al.*, 2020). Outra revisão sistemática da literatura evidenciou que LDH sérico aumentado e linfopenia foram associados a doença grave por COVID-19, enquanto contagem de células CD3+CD8+ ≤ 75 células/ μl , insuficiência renal aguda estágios 2 e 3, proteinúria $\geq 1+$, hematúria $\geq 1+$, dímero-D e creatinina aumentados estão associados a mortalidade (SETIATI *et al.*, 2020). Outra meta-análise encontrou risco de mortalidade maior em pacientes com idade avançada, sexo masculino, dispneia, diabetes e hipertensão arterial sistêmica. Entre os exames laboratoriais, leucocitose ($>10,0 \times 10^9/L$), linfopenia ($<1,1 \times 10^9/L$), PCR elevada ($>100mg/L$), LDH ($>250U/L$), dímero-D ($>1mg/L$) tiveram maiores riscos de doença grave e de mortalidade (CHIDAMBARAM *et al.*, 2020).

Idade > 60 anos e comorbidades aumentam o risco de desenvolver síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e morte (WU *et al.* 2020). A definição clínica de SDRA é baseada nos critérios de Berlim (ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.*, 2012). Um estudo envolvendo 201 participantes avaliou SDRA e morte em pacientes com pneumonia por COVID-19. A mediana de idade foi de 51 anos (variação de 43-60 anos) e 63,7% do sexo masculino. Os fatores de risco associados com o desenvolvimento e progressão de SDRA para morte foram idade avançada, neutrofilia, disfunção plaquetária e de órgãos, LDH e dímero-D aumentados (WU *et al.*, 2020).

Estudo realizado na região da Lombardia, Itália, encontrou que 87,3% de 3355 doentes com COVID-19 necessitaram ventilação mecânica invasiva (VMI) na admissão em CTI e mediana de 10 dias de VMI. Evidenciaram que níveis elevados de pressão expiratória final positiva (PEEP > 12cmH₂O), fração inspirada de oxigênio (FiO₂) ≥ 60% e baixa razão PaO₂/FiO₂ (abaixo de 200 mmHg e, principalmente, abaixo de 100mmHg) na admissão em CTI foram fatores independentes associados à mortalidade (GRASSELLI *et al.*, 2020).

Comorbidades que compõem a síndrome metabólica mostram-se associadas às formas graves de COVID-19 em estudos. Obesidade e os distúrbios metabólicos são acompanhados por inflamação crônica de baixo grau, desviando permanentemente o sistema imunológico para um fenótipo pró-inflamatório (SALTIEL; OLEFSKY, 2017). Síndrome metabólica é definida pela *American Heart Association* (AHA) como um grupo de 5 fatores de risco que podem causar doenças cardíacas, diabetes, acidente vascular cerebral, entre outros. Deve ser diagnosticada quando 3 ou mais dos seguintes fatores estão presentes: 1– glicose sérica aumentada (glicemia jejum >100mg/dl ou necessidade de medicação), 2- baixos níveis de HDL colesterol sérico (homem <40mg/dl e mulher <50mg/dl), 3- altos níveis de triglicerídeos séricos (>150mg/dl ou necessidade de medicamento), 4- obesidade abdominal (cintura abdominal em homens > 102cm e mulheres >88cm), 5- hipertensão arterial sistêmica (>130/85mmHg ou necessidade de medicação). Embora cada um desses sejam fatores de risco cardiovascular, a associação desses fatores na síndrome metabólica aumenta as chances de complicações cardiovasculares.

Um estudo multicêntrico comparou dados de 5069 participantes com síndrome metabólica (definida como 3 dos critérios: obesidade, pré-diabetes ou DM, HAS e dislipidemia) e uma população controle de 23971 participantes sem síndrome metabólica. Todos os participantes com diagnóstico de COVID-19. Síndrome metabólica foi associada com aumento do risco de internação em CTI, VMI, SDRA, hospitalização prolongada e morte. Cada critério adicional da síndrome foi associado ao aumento do risco de SDRA. Os achados do estudo sugerem a associação de síndrome metabólica com aumento do risco de SDRA e morte em pacientes hospitalizados com COVID-19 (DENSON *et al.*, 2021).

Estudo retrospectivo, multicêntrico, envolvendo 191 participantes (137 tiveram alta hospitalar e 54 faleceram hospitalizados), evidenciou chances aumentadas de mortalidade intra-hospitalar associadas a idade avançada, maior escore SOFA e

dímero-D maior que 1 μ /ml na admissão hospitalar. Comorbidades foram presentes em 48% dos participantes (30% HAS, 19% DM, 8% doença cardiovascular). A mediana de idade dos óbitos foi de 69 anos (variação de 63-76 anos). Elevados níveis séricos de IL-6, troponina cardíaca I altamente sensível e LDH e linfopenia foram mais frequentes na COVID-19 grave (ZHOU *et al.*, 2020).

Para avaliar fatores prognósticos da COVID-19 e escores clínicos, um estudo incluiu 257 doentes maiores de 18 anos com doença moderada, grave e crítica por COVID-19. Os escores clínicos avaliados foram: Avaliação Sequencial de Falência Orgânica (SOFA), SOFA rápido (qSOFA), escore de Alerta Precoce (*Modified Early Warning Scores* - MEWS), CURB-65, Escala de Coma Glasgow (ECG), e Índice de Comorbidade de Charlson (CCI). Na análise de regressão logística, pontuações mais altas de SOFA e critérios de gravidade de pneumonia CURB-65 foram significativos na previsão de mortalidade na admissão. Em relação à predição de mortalidade em 30 dias, os valores de corte ótimos encontrados foram: SOFA > 2 pontos, sensibilidade de 70,27%, especificidade de 85,45%, e CURB-65 \geq 2 pontos, sensibilidade de 59,46%, especificidade de 86,36%. Além disso, dímero-D, ferritina, leucócitos e neutrófilos aumentaram significativamente após admissão nos participantes que evoluíram a óbito (ÖNAL *et al.*, 2022).

Estudo com 125 doentes com COVID-19 teve idade avançada, doença isquêmica do coração e tabagismo significativamente associados à mortalidade na COVID-19. Níveis elevados de dímero-D e LDH e contagens reduzidas de linfócitos foram preditores de mortalidade. Curva ROC para pontuação SOFA apresentou um valor de corte \geq 3,5 (sensibilidade 91,7% e especificidade 87,5%) (CHAUHAN *et al.*, 2021).

2.7 Escores de gravidade/mortalidade na COVID-19

Unidades de terapia intensiva frequentemente empregam sistemas de pontuação de gravidade e, também, critérios clínicos validados para estratificar o risco do paciente e avaliar o prognóstico. Dois escores frequentemente usados são APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*) e o SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment Scores*).

2.7.1 APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II*)

O APACHE II é um sistema de pontuação que estima mortalidade de doentes críticos em CTI. Publicado em 1985 por Knaus *et al.*, o APACHE II é calculado a partir da soma de 12 dados clínicos, fisiológicos e laboratoriais coletados de rotina, idade e histórico prévio de comorbidades, para fornecer uma medida geral da gravidade da doença e o risco de óbito nas primeiras 24 horas de CTI (KNAUS *et al.*, 1985).

Os dados pontuados são: temperatura, pressão arterial média, frequência cardíaca, frequência respiratória, oxigenação, bicarbonato sérico, pH arterial, sódio sérico, potássio sérico, creatinina sérica, hematócrito, leucócitos, Escala de Coma Glasgow, idade e problemas crônicos de saúde. O APACHE II tem pontuação mínima 0 e máxima 71. O aumento da pontuação está associado a aumento do risco de morte hospitalar (KNAUS *et al.*, 1985).

Tabela 1 - Relação aproximada entre APACHE II e mortalidade hospitalar para pacientes não cirúrgicos.

Pontuação APACHE II	Taxa de Mortalidade
0 - 4 pontos	4%
5 - 9 pontos	8%
10 - 14 pontos	15%
15 - 19 pontos	24%
20 - 24 pontos	40%
25 - 29 pontos	55%
30 - 34 pontos	73%
≥35 pontos	85%

Fonte: KNAUS *et al.*, 1985

Pontuação ≥ 20 nas primeiras 24h de admissão, mortalidade $\geq 40\%$ (KNAUS *et al.*, 1985).

2.7.2 SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment Scores*)

O SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment Scores*) é uma ferramenta de pontuação validado como preditor de disfunções orgânicas e mortalidade e pode ser empregado ao longo do tempo de internação no CTI. Consiste em 6 variáveis, cada uma representando um sistema de órgãos (respiratório, coagulação, hepático, cardiovascular, neurológico e renal). Pontua disfunção orgânica de cada sistema de 0 (normal) a 4 (mais alto grau de disfunção), sendo a pontuação máxima de 24 (SINGER *et al.*, 2016; WILLIAMS *et al.*, 2017; FERREIRA *et al.*, 2001).

Em 2001 foi publicado um estudo que analisou as tendências das pontuações do SOFA: Pontuação SOFA inicial (0-24 pontos, feita na admissão), Δ -SOFA (diferença entre 2 pontuações subsequentes), pontuação SOFA mais alta (maior valor registrado durante a permanência no CTI) e pontuação SOFA média (razão entre o SOFA total e o tempo de permanência no CTI), e suas correlações com mortalidade. Pontuação SOFA total é a soma de todas as pontuações SOFA diárias para cada paciente (FERREIRA *et al.*, 2001).

Pontuação SOFA inicial maior que 11 previu uma taxa de mortalidade de 95%. Pontuação SOFA inicial menor que 9 previu uma taxa de mortalidade de menos de 33%. Pontuações SOFA mais alta maiores que 11 foram associadas a uma taxa de mortalidade maior que 80%. Pontuação SOFA média maior que 5 correlacionou com mortalidade maior que 80%. O valor preditivo da pontuação SOFA média foi independente do tempo de permanência no CTI (FERREIRA *et al.*, 2001).

Na avaliação das tendências da pontuação de SOFA nas primeiras 96 horas de admissão no CTI, independentemente da pontuação inicial, a mortalidade foi de pelo menos 50% quando a pontuação aumentou, 27% a 35% quando a pontuação não alterou e menor que 27% quando a pontuação diminuiu. As diferenças na mortalidade foram mais bem previstas nas primeiras 48 horas. Nas primeiras 48 horas de internação, uma diminuição na pontuação foi associada com uma mortalidade menor que 6%, exceto quando pontuação SOFA inicial > 11. Nas primeiras 48 horas da internação, a não alteração ou o aumento da pontuação foram associados com uma taxa de mortalidade de 37% quando SOFA inicial foi de 2-7 e de 60% quando o SOFA inicial foi de 8-11 (FERREIRA *et al.*, 2001).

Moreno *et al.* (1999) mostraram que a pontuação SOFA inicial pode quantificar o grau de disfunção orgânica na admissão, que a Δ -SOFA pode demonstrar a

evolução da disfunção orgânica que se desenvolve durante a internação no CTI e que a pontuação máxima total pode representar o grau de disfunções orgânicas acumulada pelo paciente. Descobriu que a disfunção máxima renal, hepática e da coagulação podem desenvolver ao longo de dias, de modo que a pontuação de SOFA inicial e nas primeiras 48 horas podem não refletir a extensão total da disfunção orgânica (MORENO *et al.*, 1999).

Um ponto forte da pontuação SOFA é que a maioria dos dados usados para o cálculo são rotineiramente disponíveis nos prontuários. Porém, o componente neurológico do SOFA geralmente é baseado na Escala de Coma de Glasgow (ECG) (BASTOS *et al.*, 1993), difícil de ser calculado em pacientes intubados para ventilação mecânica invasiva e em uso de sedações para manejo ventilatório. A ECG pontua resposta verbal, resposta motora e abertura ocular (abertura ocular 1 a 4 pontos, resposta verbal 1 a 5 pontos, resposta motora 1 a 6 pontos). O SOFA modificado substitui a ECG pela escala RASS (*Richmond Agitation-Sedation Scale*) (SESSLER *et al.*, 2002). A escala RASS classifica a qualidade da sedação e analgesia, o componente de agitação, o nível de excitação do doente em meio a tudo que pode afetar seu cérebro durante a doença, incluindo sedações, e depende da capacidade motora do paciente, muitas vezes prejudicados por bloqueadores neuromusculares. RASS é uma escala confiável para avaliar o despertar ao longo do tempo de internação em CTI, em ventilação mecânica ou não, e validada para uso (VASILEVSKIS *et al.*, 2016). O estudo que validou o SOFA usando a escala RASS, mostrou que, seja usando RASS ou ECG, a pontuação de SOFA de admissão foi menos precisa do que a pontuação SOFA média ao prever mortalidade, sugerindo um papel mais limitado para avaliação de risco no momento da admissão no CTI. Encontrou a pontuação SOFA média como preditor de mortalidade (VASILEVSKIS *et al.*, 2016).

Remover os efeitos da sedação e de bloqueadores musculares, em especial na SDRA por COVID-19 grave / crítica, em muitas situações é muito difícil, principalmente em contexto de comprometimento respiratório grave e de manejo ventilatório difícil.

Tabela 2 - Escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment Score*)

Sistemas	Variáveis	0	1	2	3	4
Respiratório	PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	>400	≤400	≤300	≤200	≤100
Coagulação	Plaquetas x10 ³ /μL	>150	≤150	≤100	≤50	≤20
Hepático	Bilirrubina mg/dl	<1,2	1,2-1,9	2,0-5,9	6,0- 11,9	>12,0
Cardiovascular	Hipotensão	Sem hipotensão	PAM < 70mmhg	Dop ≤ 5 ou Dob qualquer dose ‡	Dop >5, Ep ≤0,1, ou Nor≤ 0,1 ‡	Dop >15, Ep >0,1, ou Nor >0,1 ‡
Sistema Nervoso Central	ECG	15	13-14	10-12	6-9	<6
Renal	Cr mg/dl ou diurese ml/d	<1,2	1,2-1,9	2,0-3,4	3,5- 4,9 ou <500	>5,0 ou <200

Notas: PaO₂: pressão arterial de O₂; FiO₂: Fração inspirada de oxigênio; ECG: Escala de Coma Glasgow; Cr: creatinina; PAM: Pressão Arterial Média; Dop: dopamina; Dob: dobutamina; Ep: epinefrina; Nor: norepinefrina

‡ Agente adrenérgico administrado por pelo menos 1 hora (doses em μ/kg/minuto).

Fonte: FERREIRA et al., 2001.

3. JUSTIFICATIVA

A pandemia da COVID-19, *Coronavirus disease 2019*, declarada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) em 11 de março de 2020, resultado de infecção humana pelo *Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*, SARS-CoV-2, iniciou na China em dezembro de 2019 e rapidamente espalhou-se pelo mundo desafiando intensamente a vigilância epidemiológica e impondo sérias ameaças à organização dos sistemas de saúde (CUCINOTTA; VANELLI, 2020).

Causada por um vírus altamente transmissível, associada à abundância de viagens internacionais conectando todo o planeta, à desigualdade de acesso às vacinas no mundo e ao potencial de mutações aleatórias pelo SARS-CoV-2, a COVID-19 mostrou-se, e se mantém, de extrema importância para saúde pública mundial.

Globalmente, até 10 de junho de 2022 foram mais de 500 milhões de casos de infecção pelo SARS-CoV-2 notificados à OMS e mais de 6 milhões de mortes em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). Os Estados Unidos da América lideram com o maior número de casos confirmados de infecção pelo SARS-CoV-2 no planeta, seguidos pela Índia e em terceiro lugar pelo Brasil (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022). No Brasil, segundo os últimos dados da OMS, até o dia 03 de junho de 2022 foram confirmados 31.019.038 casos de COVID-19 e mais de 666 mil óbitos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2022).

Assim, torna-se essencial o estudo clinicopatológico da COVID-19 fatal para maior conhecimento da evolução da doença e para as tomadas de decisões clínica e de gestão do sistema de saúde baseadas em clássicas evidências científicas. Recentes revisões sobre a patogênese e lesões pulmonares causadas pelo SARS-CoV-2 (CARAMASCHI *et al.*, 2021; DUARTE-NETO *et al.*, 2020) favorecem o quadro de dano alveolar difuso, indicativo da fase inicial da síndrome respiratória aguda grave - SRAG, caracterizada por edema pulmonar, formação de membrana hialina e presença de resposta inflamatória (CARAMASCHI *et al.*, 2021; DUARTE-NETO *et al.*, 2020). Sabe-se que a COVID-19 afeta principalmente os pulmões, mas estudos histológicos evidenciam o acometimento de múltiplos outros órgãos como rim, coração, baço, fígado, cérebro, testículos, linfonodos, intestino e pele (CARAMASCHI *et al.*, 2021; DUARTE-NETO *et al.*, 2020; PEIRIS *et al.*, 2021). Vários estudos descreveram os principais marcadores laboratoriais alterados na hospitalização dos

doentes que progridem para forma grave da doença, como PCR, LDH, dímero-D, linfócitos, leucócitos, neutrófilos, ureia, creatinina, índice de oxigenação e a influência da idade e das comorbidades na evolução da doença (ZHENG *et al.*, 2020; SETIATI *et al.*, 2020; CHIDAMBARAM *et al.*, 2020; GRASSELLI *et al.*, 2020). Os clássicos escores de prognóstico, APACHE II e SOFA inicial (KNAUS *et al.*, 1985; FERREIRA *et al.*, 2001), avaliados nas primeiras 24 horas da admissão hospitalar tem se mostrado insuficientes para se fazer prognóstico, com boa precisão, de uma doença que está em evolução diária. As disfunções máximas renal, hepática e da coagulação podem desenvolver ao longo de dias, de modo que a pontuação de SOFA inicial pode não refletir a extensão total da disfunção orgânica (MORENO *et al.*, 1999).

Assim, um estudo avaliando dados clínicos, demográficos, radiológicos, marcadores laboratoriais e a evolução da doença e os principais achados histopatológicos em múltiplos órgãos, em uma análise clinicopatológica, podem contribuir para o melhor entendimento da doença e da história natural da infecção nos seres humanos.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Descrever e analisar as características clinicopatológicas da COVID-19 em casos fatais.

4.2 Objetivos específicos

1. Descrever aspectos clínicos, laboratoriais e radiológicos da população do estudo;
2. Caracterizar as lesões histopatológicas em amostras de autópsias minimamente invasivas;
3. Detectar o SARS-CoV-2 em amostras de tecido por imuno-histoquímica;
4. Associar as lesões histopatológicas aos dados clínicos, radiológicos e laboratoriais da população do estudo.

5. POPULAÇÃO E METODOLOGIA

5.1 Aspectos éticos do estudo

Estudo cadastrado na Plataforma Brasil e aprovado pelos Comitês de Ética em Pesquisa da UFMG, FIOCRUZ Minas e FHEMIG (ANEXO A). As pesquisas foram iniciadas somente após autorização ética, por meio de parecer consubstanciado, seguindo todas as orientações de Boas Práticas em Pesquisa Clínica e cumprindo rigorosamente a Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. A pesquisa foi realizada no Brasil e respeitou a Lei da Biodiversidade, nº 13.123, de 20 de maio de 2015 (BRASIL, 2015).

5.2 Delineamento metodológico

5.2.1 Desenho do estudo

Trata-se de estudo primário, unicêntrico e observacional, do tipo transversal, realizado no Centro de Tratamento Intensivo do Hospital Eduardo de Menezes (HEM) – FHEMIG, Serviço de Imuno-histoquímica do Instituto René Rachou – FIOCRUZ Minas e Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, no período de agosto de 2020 a maio de 2022.

5.2.2 Desfecho primário

O desfecho primário do estudo foi a ocorrência de lesões histopatológicas inflamatórias nos pulmões (DAD) e simultâneas nos pulmões, coração, fígado, baço e rins, que caracterizam os fenótipos inflamatórios em pacientes com COVID-19 grave.

5.2.3 Desfecho secundário

O desfecho secundário do estudo incluiu as alterações clínicas, laboratoriais e dos escores de mortalidade APACHE II e SOFA.

5.2.4 Tamanho da amostra

Baseado em estudos prévios internacionais e nacionais para validação do procedimento minimamente invasivo, bem como definições dos índices epidemiológicos da pandemia de COVID-19 no momento de início do estudo, foi estimada amostra de conveniência de 50 indivíduos.

5.3 População do estudo

O projeto incluiu 50 indivíduos, admitidos no Centro de Tratamento Intensivo do Hospital Eduardo de Menezes (CTI-HEM) – FHEMIG, encaminhados, principalmente, pelas Unidades de Pronto Atendimento (UPA) ou por outros hospitais do Estado de Minas Gerais, Brasil.

5.3.1 Critérios de inclusão

Incluídos no estudo, após consentimento livre e esclarecido emitido pelos familiares, indivíduos maiores de 18 anos que evoluíram a óbito durante a internação no CTI do HEM, previamente notificados aos sistemas de vigilância epidemiológica da SMS/PBH e SES/MG por infecção por SARS-CoV-2 e com diagnóstico confirmado de COVID-19 por teste molecular (RT-qPCR).

5.3.2 Critérios de exclusão

Excluídas do estudo os casos de COVID-19 fatal em gestantes, pessoas com teste positivo e/ou diagnóstico de infecção pelo HIV e pacientes portadores de doença crônica terminal.

5.4 Coleta dos dados, agrupamentos e escores clínicos

Para cada indivíduo incluído no estudo, foram coletados os dados demográficos, sexo e idade, e os seguintes dados clínicos: sinais e sintomas relatados na admissão hospitalar pelo doente e/ou familiares, número de dias do início dos

sintomas até a internação hospitalar, número de dias do início dos sintomas até o óbito, número de dias da internação hospitalar até o óbito, histórico de comorbidades pré-existentes. Foram acessadas informações das primeiras 24 horas de admissão no CTI do HEM e registrados o uso de antibióticos (ATB), necessidades de suplementação de oxigênio (sem diferenciar se por sonda nasal, máscara facial ou ventilação mecânica), necessidade de ventilação mecânica invasiva (VMI), presença de hipotensão, necessidade de aminas vasoativas, presença de insuficiência renal, realização de hemodiálise, uso de anticoagulante (registrada como sim ou não, não foi realizada diferenciação se profilática ou terapêutica), uso de corticoide (registrado como sim ou não, não foi avaliado qual corticoide, dose ou tempo de uso), Escala de Coma de Glasgow e uso de sedação venosa contínua (sim ou não para uso de sedações venosas). A necessidade de amina vasoativa foi considerada pelo uso de norepinefrina ou vasopressina, aminas vasoativas usadas no CTI do HEM, por no mínimo 1 hora em infusão venosa contínua, como no estudo do escore SOFA que considera agente adrenérgico administrado por pelo menos 1 hora - doses em $\mu\text{kg}/\text{minuto}$ (FERREIRA *et al.*, 2001). No CTI do HEM os esquemas de profilaxia contra trombozes vasculares foram feitos com enoxaparina 40mg subcutâneo diariamente ou com heparina de baixo peso molecular 0,25mg subcutâneo de 12/12horas, usados durante toda a internação hospitalar, caso não haja contraindicações. A anticoagulação terapêutica foi feita com solução de heparina não fracionada, em infusão venosa contínua, ajustada pelo TTP, ou com enoxaparina 1mg/kg subcutâneo de 12/12 horas, ajustada pela idade e pela função renal. No CTI do HEM os esquemas de corticoides usados nos doentes com COVID-19 foram dexametasona 6mg/dia, ou hidrocortisona 100mg de 8/8h (em casos de broncoespasmos em portadores de doença pulmonar crônica) ou hidrocortisona 50mg de 6/6 horas (em doentes apresentando choque), por tempo mínimo de 10 dias. Dados referentes ao período de internação no CTI foram registrados, se presentes em algum momento da internação, para cada indivíduo incluído no estudo e esses dados são: necessidade de intubação orotraqueal, presença de hipotensão, necessidade de aminas vasoativas, uso de antibióticos (ATB) durante os primeiros 5 dias de admissão no HEM, hipótese diagnóstica de infecção associada a assistência à saúde (IRAS), uso de antibióticos com amplo espectro antimicrobiano, diagnóstico de pneumonia (PNM) intra-hospitalar, presença de insuficiência renal, realização de hemodiálise e tempo de uso de VMI. Em hipótese diagnóstica de IRAS foram incluídas as infecções

desenvolvidas após 48 horas de internação hospitalar (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA, 2021), tanto as infecções confirmadas por análises microbiológicas e associadas a sinais e sintomas clínicos, quanto as suspeitas clínicas de infecção bacteriana que motivaram início empírico de antimicrobianos. Os resultados dos exames de imagem (tomografia computadorizada e/ou RX de tórax) também foram obtidos na revisão dos prontuários clínicos da internação hospitalar e registrados. Os dados laboratoriais foram acessados e registrados para cada indivíduo incluído no estudo: hemoglobina, leucócitos, neutrófilos, linfócitos, bastonetes, plaquetas, RNI, tempo de tromboplastina parcial (PTT), creatinina, ureia, transaminase oxalacética (AST), transaminase pirúvica (ALT), bilirrubinas totais, Gama G.T., fosfatase alcalina (FA), proteína C reativa (PCR), desidrogenase láctica (LDH), dímero-D, ácido láctico ou lactato, creatinofosfoquinase (CK), potássio, sódio, pH, pCO₂, HCO₃, PaO₂, saturação de oxigênio. Os resultados foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa Excel e utilizados para construção das tabelas com as características da população do estudo.

Para a construção dessas tabelas, os indivíduos foram separados em 3 grupos, distribuídos a partir da data de início dos sintomas até a admissão hospitalar: casos com 1 a 9 dias de início dos sintomas na admissão hospitalar foram alocados no grupo estágio agudo; casos com 10 a 15 dias de início dos sintomas na admissão hospitalar no grupo estágio crítico; aqueles com 16 dias ou mais no grupo estágio tardio. Essa divisão e alocação dos indivíduos nos referidos grupos foi baseada no estudo de Zheng *et al.* (2021).

Para estratificar o risco do doente nos primeiros dias de admissão no CTI foram usados dois escores clínicos: APACHE II e SOFA. O APACHE II foi calculado para as primeiras 24 horas da admissão no CTI. O SOFA foi calculado para as primeiras 24 horas (D1), 48 horas (D3) e 96 horas (D5) da admissão. Também foi calculado o SOFA do dia do óbito (D óbito). A pontuação de SOFA foi calculada para todos os doentes em ventilação mecânica invasiva sem pontuar a variável Sistema Nervoso Central, uma vez que muitos eram doentes com quadros respiratórios graves, de difícil manejo ventilatório, necessitando de sedações venosas contínuas e, em muitos casos, bloqueadores neuromusculares.

Para avaliar o grau de hipoxemia dos doentes foi usado o índice de oxigenação calculado pela fórmula: razão PaO₂/FiO₂.

5.5 Autópsia minimamente invasiva e análises morfológicas

5.5.1 Procedimento minimamente invasivo

O procedimento minimamente invasivo *post-mortem* foi realizado no Centro de Terapia Intensiva do Hospital Eduardo de Menezes da Fundação Hospitalar de Minas Gerais (CTI-HEM/FHEMIG). O período de coleta do material foi de agosto de 2020 a abril de 2021. Os procedimentos e coletas das amostras de tecidos dos órgãos estudados foram realizados pelos médicos plantonistas do CTI, à beira do leito do indivíduo que evoluiu a óbito, na unidade de terapia intensiva. Ao ocorrer o óbito, o familiar e/ou responsável por receber as notícias médicas do doente por telefone, como preconizado naquele momento da pandemia da COVID-19, foi contactado, informado e esclarecido sobre o óbito. Quando possível, na mesma ligação telefônica o responsável foi informado e esclarecido sobre o estudo e solicitada permissão para a inclusão do falecido. Todos os incluídos tiveram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) - assinado pelo familiar e/ou responsável. Após autorização pelo responsável, um dos médicos plantonistas do CTI se dirigiu ao leito e fez as coletas das amostras nas primeiras 4 horas da ocorrência do óbito. Foram usadas agulhas semiautomáticas Gauge 14 ou 16, do tipo *Tru cut*, para punção e biópsia dos órgãos e coletas das amostras de tecidos, guiada por ultrassom portátil.

No tórax, as biópsias dos pulmões com agulha semiautomática foram realizadas coletando amostras nas regiões superiores, médias e inferiores de cada pulmão, geralmente penetrando a pele a nível da linha axilar média, após assepsia com álcool 70%, e introduzindo a agulha guiada por ultrassonografia. O procedimento foi realizado para cada um dos pulmões separadamente. Foram coletadas pelo menos 6 amostras de cada pulmão e foram imediatamente colocadas em formaldeído 10%, em frascos identificados como sendo pulmão direito ou pulmão esquerdo. Para o coração, a agulha semiautomática *Tru cut* foi introduzida na região do 5º espaço intercostal para-esternal da região torácica esquerda. Foram obtidas as biópsias repetindo as punções e alterando a direção da agulha para acessar áreas diferentes do coração. Foram coletadas pelo menos 6 amostras do coração em regiões diferentes do órgão e as amostras foram imediatamente colocadas em formaldeído 10%, em frascos identificados como sendo do coração. No abdome, após assepsia da pele com álcool 70%, foram coletadas pelo menos 6 amostras do rim direito e 6

amostras do rim esquerdo, puncionando os espaços lombares superiores direito e esquerdo, respectivamente, acessando regiões diferentes de cada rim (regiões: cranial, média, caudal de cada rim), com agulha guiada por ultrassonografia. As amostras renais foram imediatamente colocadas em formaldeído 10%, em frascos identificados como sendo rim direito e outro como rim esquerdo. Do fígado foram coletadas pelo menos 6 amostras, puncionando o 11º espaço intercostal na linha axilar anterior direita, com agulha guiada por ultrassonografia, repetindo as punções usando os mesmos pontos de entrada, mas alterando a direção da agulha para obter biópsias de regiões diferentes do órgão. As amostras foram imediatamente colocadas em formaldeído 10%, em frascos identificados como sendo fígado. Do baço foram coletadas pelo menos 6 amostras, puncionando o 11º espaço intercostal na linha axilar média esquerda e as biópsias foram realizadas por agulha guiada por ultrassonografia, repetindo as punções e alterando a direção da agulha para acessar regiões diferentes do órgão. As amostras foram imediatamente colocadas em formaldeído 10%, em frascos identificados como sendo baço. O ultrassom portátil foi usado para a localização precisa do órgão, para guiar a agulha e a área a ser biopsiada. No momento imediatamente após a coleta, todas as amostras foram colocadas em frascos com formaldeído 10%, identificados por órgãos, data e nome, e encaminhadas ao Laboratório de Imunologia de Doenças Virais, que conta com Nível de Biossegurança 2, e Serviço de Imuno-histoquímica, ambos da FIOCRUZ Minas, para processamento tecidual e confecção de lâminas histológicas.

5.5.2 Preparação dos blocos de parafina e confecção das lâminas para estudo histológico

As biópsias dos procedimentos de autópsia minimamente invasiva foram mantidas em formaldeído 10% (Êxodo científica, Nova Veneza, SP, Brasil) por 24 horas a 48 horas e foram então submetidas ao processamento histológico utilizando o Processador Automático de Tecidos Modelo PT05 (Lupetec, São Carlos, SP, Brasil). Na etapa de desidratação, as amostras foram imersas em formaldeído 10% por uma hora, seguido de incubação em álcool etílico (Synth, Diadema, SP, Brasil) em diferentes concentrações – 70% por uma hora, 95% por uma hora e 99,5% por uma hora. A etapa de diafanização foi realizada mantendo as amostras imersas em acetato de N-butila P.A. (Synth, Diadema, SP, Brasil) por uma hora, e xileno P.A. (NEON,

Suzano, SP, Brasil) por três horas. A infiltração por parafina líquida (Grupo Erviegas/Easypath, São Paulo, SP, Brasil) foi realizada à 56°C, por duas horas.

As amostras foram inseridas em bloco de parafina, seccionadas em cortes de espessura de quatro micrômetros, com o auxílio de um micrótomo modelo Leica RM2125RT (Leica Biosystem, Wetzlar, He, Alemanha), e montadas em lâminas histológicas para realização da análise microscópica histopatológica. As lâminas histológicas coradas pela Hematoxilina & Eosina (HE) de cada tecido foram escaneadas e suas imagens virtuais analisadas pelo aplicativo *Case Viewer*. Foram revisados e estabelecidos critérios de adequabilidade do material e de lesões comuns, baseados na presença do tecido, quantidade de material amostrado e presença da lesão. Para o estudo histopatológico convencional, as principais lesões incluídas no estudo para definição do fenótipo inflamatório foram: Pulmão: dano alveolar difuso, edema intersticial alveolar, infiltrado linfocitário intersticial; Coração: miocardite, necrose focal de miócitos, infiltrado inflamatório, macrófagos intersticiais; Fígado: congestão centrolobular, necrose e apoptose de hepatócitos, infiltrado linfocitário; Rim: necrose tubular aguda e infiltrado inflamatório intersticial; Baço: congestão, depleção linfocitária, atrofia da polpa branca, necrose do parênquima, esplenite aguda (infiltrado neutrofílico).

5.5.3 Sequência de etapas para preparação dos tecidos histológicos coletados por autópsia minimamente invasiva

1ª) Fixação:

- Imediatamente após a retirada, as amostras de tecidos histológicos coletadas por autópsia minimamente invasiva foram colocadas em frascos (identificados por indivíduo, órgão e enumerados) contendo Formaldeído 10% como solução fixadora;
- Após a fixação, as amostras foram transportadas ao laboratório do Serviço de Imuno-histoquímica, sala 232, do Instituto René Rachou – FIOCRUZ-MG.

2ª) Macroscopia:

- Procedimento realizado no Laboratório de Imunologia de Doenças Virais - IDV, sala 309, do Instituto René Rachou – FIOCRUZ-MG;

- Com o auxílio de uma pinça, em cabine de fluxo laminar, as amostras foram retiradas dos frascos e envolvidas em pequenos recortes de papel toalha (identificados por indivíduo, órgão e enumerados);
- Envoltas por papel toalha (para não haver perda de fragmentos dos tecidos histológicos), as amostras de cada órgão foram colocadas em cassetes (frascos específicos), separadamente e identificados por indivíduo, órgão e enumerados;
- Os cassetes contendo as amostras histológicas foram colocados no cesto do processador de tecidos para serem processadas.

3ª) Processamento dos tecidos:

- Realizados na sala 401 do Instituto René Rachou – FIOCRUZ-MG;
- Por automação em equipamento denominado Processador de Tecidos Luptec PT-05;
- Em três etapas: desidratação, clarificação e impregnação.

A) Desidratação:

- Realizada pela passagem dos fragmentos de tecidos por banhos de soluções de concentrações crescentes de álcool etílico (70% por uma hora, 95% por uma hora e 99,5% por uma hora);

B) Clarificação:

- Nessa etapa foi utilizado o xilol. Foram realizados 3 banhos, sendo que em cada banho o material permaneceu por 60 minutos;

C) Impregnação:

- Nessa etapa foi utilizada a parafina no estado líquido (56°C a 60°C). Foram realizados 2 banhos sendo que em cada banho o material permaneceu por 60 minutos.

4ª) Inclusão em parafina:

- As amostras foram levadas ao laboratório de Biologia Celular e Molecular, no Instituto René Rachou – FIOCRUZ-MG;
- Retiradas dos cassetes e do papel toalha, colocadas em formas de alumínio e parafinadas, formando pequenos blocos de parafina contendo amostras dos tecidos histológicos.
- Em formas de alumínio foi derramada parafina derretida por aquecimento (56° a 60°). Em seguida, as formas foram colocadas em superfície fria para dar consistência

pastosa à parafina;

- As amostras dos tecidos histológicos foram organizadas no fundo das formas com parafina em consistência pastosa e, em seguida, totalmente cobertas por parafina derretida e resfriadas para solidificar e formar blocos de parafina com tecidos histológicos, depois, retirados das formas;
- Obtidos, assim, blocos de parafina separados por tipos de tecidos histológicos (por órgão);
- Blocos de parafina identificados por indivíduo, por órgão e enumerados.

5ª) Confeção e coloração das lâminas:

- Os blocos de parafina foram levados à sala de Biologia Celular e Molecular do Instituto René Rachou – FIOCRUZ-MG onde foram fatiados no micrótomo produzindo cortes histológicos delgados de 4 µm contendo amostras dos tecidos.
- Após serem seccionados no micrótomo, os cortes histológicos foram colocados para flutuar em água aquecida a 45°C - 50°C e distenderem sobre a superfície da água, evitando a formação de pregas. Ao hidratar e amolecer a parafina, flutuando na superfície da água aquecida, os cortes contendo tecidos histológicos foram posicionadas em lâmina de vidro e colocados para secar.
- As lâminas histológicas foram coradas pela Hematoxilina & Eosina (HE) e coloração para imuno-histoquímica.

5.5.4 Procedimento de imuno-histoquímica

Para a detecção imuno-histoquímica do SARS-CoV-2 nas amostras de tecido, lâminas com cortes parafinados de 4 µm dos blocos de tecido foram desparafinizadas em xilol e re-hidratadas em álcool. A recuperação da antigenicidade foi feita pelo aquecimento a 90°C no vapor por 20 minutos em solução tampão de citrato de sódio (pH 6,0). A coloração para imuno-histoquímica foi feita com o produto *Coronavirus pan Monoclonal Antibody* (FIPV3-70) na diluição de 1/100 em PBS. A peroxidase endógena foi bloqueada e as lâminas foram lavadas em solução tampão. Foram adicionados 100 µL do anticorpo primário, na diluição informada, por 50 minutos, em temperatura ambiente em câmara úmida. Os cortes foram lavados com PBS e incubados com Novolink™ *Polymer Detection Systems* (LEICA), de acordo com as especificações do fabricante.

5.5.5 Protocolo de imuno-histoquímica para COVID-19:

As seguintes etapas foram empreendidas para a realização dos ensaios de imuno-histoquímica:

1ª) Desparafinização e re-hidratação:

- a) Deixar lâminas overnight na estufa a 56° C;
- b) Lavar lâminas 3 vezes no xilol, entre 3 e 5 minutos cada, com leve agitação;
- c) Lavar lâminas 3 vezes no álcool etílico 100%, entre 3 e 5 minutos cada, com leve agitação;
- d) Lavar lâminas 3 vezes na água corrente, entre 3 e 5 minutos cada, com leve agitação.

2ª) Recuperação antigênica induzida pelo calor:

- a) Aquecer as lâminas em solução de citrato de sódio 0.01M (pH 6,0) a 90° C por 20 minutos;
- b) Resfriar as lâminas por 20 minutos;
- c) Lavar lâminas 3 vezes na água deionizada, entre 3 e 5 minutos cada, com leve agitação.

3ª) Bloqueio da peroxidase endógena:

- a) Adicionar 400 µL (2 gotas) da solução de bloqueio da peroxidase do NOVOLINK na lâmina e aguardar 20 minutos;
- b) Lavar lâminas 2 vezes no Tris – TBS em cuba de vidro, entre 3 a 5 minutos cada, com leve agitação.

4ª) Bloqueio de proteínas:

- a) Adicionar 400 µL (2 gotas) da solução de bloqueio de proteínas do NOVOLINK na lâmina e aguardar 20 minutos;
- b) Lavar lâminas 2 vezes no Tris - TBS, ~5 minutos cada, com leve agitação.

5ª) Reação do anticorpo primário:

- a) Diluir o anticorpo primário em diluente específico (diluição padrão 1:100);
- b) Aplicar o anticorpo primário diluído;
- c) Incubar lâminas por 24 hora em câmara úmida a 4° C, na geladeira;

d) Lavar lâminas 3 vezes no Tris - TBS, ~5 minutos cada, com leve agitação.

6ª) Bloqueio pós primário:

- a) Adicionar 400 μ L (2 gotas) da solução de bloqueio pós primário do NOVOLINK na lâmina e aguardar 30 minutos;
- b) Lavar lâminas 2 vezes no Tris - TBS, em cubas de vidro, entre 3 e 5 minutos cada, com leve agitação.

7ª) Reação do polímero (anticorpo secundário):

- a) Aplicar 400 μ L (2 gotas) da solução do polímero NOVOLINK na lâmina;
- b) Incubar por 50 minutos em câmara úmida a temperatura ambiente;
- c) Lavar lâminas 3 vezes no PBS, ~5 minutos cada, com leve agitação.

8ª) Preparo e reação do sistema de detecção:

- a) Diluir 10 μ L do cromógeno DAB em 2.000 μ L ou 2 ml de solução tampão substrato do DAB para solução 1:200;
- b) Aplicar 200 μ L da solução cromógeno/substrato DAB;
- c) Incubar por 10 a 15 segundos em câmara úmida a temperatura ambiente;
- d) Lavar lâminas 3 vezes na água corrente em cuba de vidro, entre 3 a 5 minutos cada, com leve agitação.

9ª) Contra coloração:

- a) Aplicar 400 μ L (2 gotas) da solução de hematoxilina do NOVOLINK na lâmina e aguardar 5 minutos;
- b) Lavar em água corrente por 1 minutos;
- c) Lavar 3 vezes no álcool etílico por 1 minutos;
- d) Lavar 2 vezes no xilol por 1 minuto e montar as lâminas.

5.6 Análise estatística

Os resultados obtidos foram armazenados em planilhas eletrônicas usando o programa Excel. Foram utilizados três tipos de análises comparativas relatadas a seguir. A comparação entre o dia da internação no Hospital Eduardo de Menezes (D1) e o dia do óbito (D óbito) da amostra estudada foi feita pelo teste de Wilcoxon. A

comparação entre grupos – D1 do grupo estágio agudo com D1 do grupo estágio crítico e D óbito do grupo estágio agudo com D óbito do grupo estágio crítico – foi feita através do teste de Mann Whitney. As comparações e associações entre variáveis categóricas da histopatologia foram realizadas pelo Qui-Quadrado e teste de Pearson. Todas as análises levaram em consideração um nível de significância de 5% e todas as variáveis contínuas realizaram o teste de normalidade de Shapiro Wilk indicando a não normalidade e com isso o uso de mediana e quartis para apresentar os resultados descritivos e testes não paramétricos para realizar as comparações. Variáveis qualitativas são apresentadas em formato de tabela de frequência. Por último, foram empregadas análises discriminantes multivariadas e curvas ROC para, respectivamente, cálculo da acurácia e determinação das melhores sensibilidade e especificidade de modelos preditivos para os desfechos primários e secundários. Foram utilizados os softwares IBM SPSS versão 25, MINITAB 17 e MATLAB.

6. RESULTADOS

A apresentação dos resultados desse estudo, que avaliou 50 indivíduos com idade média de 65 anos, variando de 60 a 76 anos, encontra-se organizada em duas partes. A primeira parte, correspondente aos Tópicos 6.1 a 6.5, é destinada às descrições das características clínicas, laboratoriais e radiológicas da amostra. A segunda parte é destinada à análise dos fatores prognósticos clínicos e laboratoriais e das alterações morfológicas presentes nas autópsias, de acordo com os desfechos primário e secundário do estudo.

6.1 Descrição da coorte

As características demográficas e clínicas da amostra estudada são apresentadas abaixo na Tabela 3. Os indivíduos foram admitidos no Centro de Terapia Intensiva do HEM devido síndrome respiratória aguda grave – SRAG e diagnosticados com infecção pelo SARS-CoV-2 por teste molecular realizado em amostra coletada com swab nasofaríngeo ou aspirado nasotraqueal. Apresentaram idade média de 65 anos, variando de 60 a 76 anos, e 26 (52%) foram do sexo masculino. Do início dos sintomas até a internação hospitalar a mediana foi de 7 dias (variação 4,5 – 9 dias), do início dos sintomas até o óbito a mediana foi de 16 dias (variação 12,5 – 20 dias) e da internação hospitalar até o óbito a mediana foi de 8 dias (variação 5 – 13 dias). Os sintomas mais frequentes relatados na anamnese de admissão foram: 50 (100%) indivíduos relataram dispneia, 44 (88%) dos 50 relataram tosse e 31 (63,3%) de 49 relataram febre. Comorbidades foram relatadas por 45 (90%) dos 50, sendo que 41 (82%) relataram duas ou mais comorbidades. As comorbidades mais prevalentes foram: 41 (82%) dos 50 indivíduos informaram hipertensão arterial sistêmica, 27 (54%) dos 50 informaram diabetes mellitus, 26 (56,5%) de 46 eram obesos (IMC não foi registrado nos prontuários e o dado - Obesidade - foi informação escrita no prontuário hospitalar por membros da equipe profissional assistente) e, na sequência, doenças pulmonares e cardiovasculares.

Tabela 3 - Características gerais da amostra de 50 indivíduos falecidos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e submetidos a autópsias minimamente invasivas, no período de agosto de 2020 a abril de 2021, no CTI do Hospital Eduardo de Menezes, Minas Gerais, Brasil.

Características (n = 50)	mediana	(Q1 – Q3)
Idade (anos)	65	(60 - 76)
Sintomas até internação hospitalar (dias)	7	(4,5 - 9)
Internação até o óbito (dias)	8	(5 – 13)
Sintomas até o óbito (dias)	16	(12,5 - 20)
Sexo (n = 50)	n	%
Masculino	26	52,0
Feminino	24	48,0
Sintomas	sim	% sim
Febre (n = 49)	31	63,3
Tosse (n = 50)	44	88
Dispneia (n = 50)	50	100,0
Dor de garganta (n = 47)	3	6,4
Coriza (n = 46)	6	13
Cefaleia (n = 47)	6	12,8
Mialgia/artralgia (n = 47)	10	21,3
Anosmia (n = 48)	5	10,4
Ageusia/disgeusia (n = 48)	4	8,3
Hemoptise (n = 49)	1	2,0
Diarreia (n = 49)	6	12,2
Dor abdominal (n = 47)	6	12,8
Imagem de tórax (n = 50)	22	44
Comorbidades (%Sim)	sim	% sim
DM (n = 50)	27	54
HAS (n = 50)	41	82
Obesidade (n = 46)	26	56,5
DPOC (n = 49)	9	18,4
Asma (n = 49)	3	6,1
Tabagismo (n = 48)	2	4,2

Tabagismo prévio (n = 47)	12	25,5
Doença pulmonar geral (n = 50)	14	28
Doença coronariana prévia (n = 50)	5	10
Insuficiência cardíaca prévia (n = 50)	7	14
Arritmia (n = 49)	4	8,2
Doença cardíaca prévia (n = 50)	11	22
AVC prévio (n = 50)	5	10
Doença renal crônica (n = 48)	4	8,3
Doença hepática crônica (n = 50)	1	2

DM: Diabetes Mellitus; HAS: hipertensão arterial sistêmica; DPOC: doença pulmonar obstrutiva crônica; AVC: acidente vascular cerebral.

Fonte: O autor.

Nas primeiras 24 horas de admissão dos 50 incluídos da amostra no hospital Eduardo de Menezes, 100% usaram antimicrobianos, 100% usaram oxigênio suplementar, 56% necessitaram ventilação mecânica invasiva (VMI), 46% apresentaram hipotensão, 38% necessitaram aminas vasoativas e 62% apresentaram insuficiência renal. Os 28 indivíduos em VMI receberam sedações venosas, alguns receberam bloqueadores musculares. Dados apresentados na Tabela 4.

Os 22 participantes admitidos em respiração espontânea, sem necessidades de ventilação mecânica invasiva, apresentavam Escala Coma Glasgow (ECG) 14 (9 indivíduos) e ECG 15 (13 indivíduos).

Foram avaliadas imagens de tórax disponíveis de 22 casos. Oito tinham tomografias computadorizadas de tórax disponível e evidenciaram infiltrados pulmonares difusos, opacidades pulmonares em “vidro fosco” bilateralmente. Dezesete tinham RX de tórax disponível, um apresentava condensação pulmonar hilar a direita e dezesseis apresentavam infiltrados pulmonares difusos bilateralmente.

Considerando os dados de todo período de internação no hospital Eduardo de Menezes dos 50 indivíduos, verifica-se que 92% necessitaram VMI, a mediana de dias de VMI foi de 7 dias (intervalo de 4 – 12,5 dias), 90% usaram aminas vasoativas, 98% apresentaram insuficiência renal e 42% necessitaram hemodiálise. Como visto acima, 100% usaram antimicrobianos na admissão e dados disponíveis de 46 indivíduos evidenciaram que 30 (65,2%) continuaram o uso de antimicrobiano por pelo menos 5 primeiros dias da admissão hospitalar. Ao longo da internação, 88% da amostra

usaram antibiótico de amplo espectro para tratamento de infecção relacionada a assistência à saúde (IRAS). Dados disponíveis de 29 indivíduos mostraram que 25 (86,2%) trataram pneumonia nosocomial. Todos usaram curso de corticoide e durante toda a internação hospitalar usaram anticoagulação profilática ou terapêutica. Dados apresentados na Tabela 5.

Tabela 4 – Dados das primeiras 24 horas de admissão dos 50 indivíduos da amostra no hospital Eduardo de Menezes

Característica	n	%
Antibiótico	50	100
O2 suplementar	50	100
Intubação orotraqueal	28	56
Hipotensão	23	46
Aminas vasoativas	19	38
Insuficiência renal	31	62
Anticoagulação	50	100
Corticoide	50	100
Sedação	28	56
Característica	mediana	(Q1 - Q3)
Menor saturação O2	89	(84 - 91)
APACHE II	21	(16 - 25)

Fonte: O autor.

Tabela 5 – Dados referentes ao período de internação dos 50 indivíduos da amostra no hospital Eduardo de Menezes

Característica	n	%
Intubação orotraqueal	46	92
Hipotensão	48	96
Aminas vasoativas	45	90
ATB cinco primeiros dias internação (n = 46)	30	65,2
Hipótese diagnóstica de IRAS	44	88
ATB de amplo espectro	44	88

PNM nosocomial (n = 29)	25	86,2
Outro sítio infeccioso (n = 9)	5	55,6
Insuficiência renal	49	98
Hemodiálise	21	42
Alterações cardíacas	20	40
Anticoagulação	50	100
Corticoide	50	100
Dias de VMI	7	(4 - 12,5)

ATB: antibiótico; PNM: pneumonia; VMI: ventilação mecânica invasiva.

Fonte: O autor.

Em Hipótese diagnóstica de IRAS (infecção relacionada a assistência à saúde) foram incluídas as infecções desenvolvidas após 72 horas de internação hospitalar, tanto as infecções confirmadas microbiologicamente e associadas a sinais e sintomas clínicos, quanto as suspeitas clínicas de infecção bacteriana associadas ao início empírico de antimicrobianos.

6.2 Perfil laboratorial

Na sequência são apresentados os exames laboratoriais da amostra de 50 indivíduos internados no hospital Eduardo de Menezes e incluídos no estudo.

A análise hematológica mostra mediana de linfócitos abaixo dos valores de referência, evidenciando linfopenia (linfócitos < 900mm³), em D1. As medianas dos leucócitos globais, neutrófilos e bastonetes foram elevadas em D óbito. No dia do óbito, 34 (89%) de 38 indivíduos tinham leucócitos >10.000 e 32 (84%) de 38 tinham neutrofilia > 8000.

Dados relativos a AST, Gama G.T. e CK apresentaram medianas acima dos valores de referência em D1, mas menores que 2 vezes o limite superior da normalidade (LSN), e não foram avaliadas em D óbito. Na admissão, 8 (16%) de 50 indivíduos tinham ALT > 60U/L (variação de 67 a 397U/L), 14 (28%) de 50 tinham AST > 60U/L (variação de 68 a 847U/L). Na admissão, 2 (4%) de 50 indivíduos tinham bilirrubinas totais acima de 1,3mg/dl (1,3mg/dl é o LSN); no dia do óbito, 11 (29%) de 38 tinham Bilirrubinas totais > 1,3mg/dl.

Os valores de PCR apresentaram medianas acima de 100mg/L em D1 e em D óbito, com elevação maior em D óbito, sendo 130,5mg/l e 148mg/l, respectivamente.

LDH apresentou mediana 522,5U/L em D1 (maior que 2 vezes o LSN) e dímero-D apresentaram medianas 1,7µg/ml em D1 (maior que 3 vezes o LSN) e não foram aferidos em D óbito.

Creatinina e ureia apresentaram medianas acima dos valores de referência em D1 e em D óbito, com elevações muito expressivas em D óbito. Potássio apresentou mediana aumentada em D óbito.

A análise gasométrica apresentou medianas de pH diminuída e de pCO₂ aumentada em D óbito. Chama a atenção índice de oxigenação (relação PaO₂/FiO₂ calculado para os participantes que estavam em ventilação mecânica invasiva) com medianas de 107,5 em D1 e 142 em D óbito, evidenciando hipoxemias moderadas (ARDS DEFINITION TASK FORCE, 2012; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). Dados apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 - Resultados laboratoriais gerais da amostra de 50 participantes falecidos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e submetidos a autópsias minimamente invasivas, no período de agosto de 2020 a abril de 2021, no CTI do hospital Eduardo de Menezes, Minas Gerais, Brasil.

Variável	D1				D óbito			
	n	Q1	Q2	Q3	n	Q1	Q2	Q3
Hemoglobina	50	11,7	12,7	14,5	38	8,6	11,1	12,3
Leucócitos	50	7275	10250	15725	38	14000	16837,5	24875
Neutrófilos	50	5508	9001	14110	38	11185	13077	20630,5
Linfócitos	50	564,8	817,5	1178,3	38	1147,5	2356,5	3284,3
Bastonetes	50	0	0	303,5	38	0	296,5	966,8
Plaquetas	50	145000	183500	293250	38	157750	212500	268000
RNI	50	1	1,1	1,2				
PTT	50	25,8	28,2	31,8				
Creatinina	50	0,9	1,3	2,1	39	1,9	3,0	4,3
Ureia	50	54,5	72	116	39	129,6	169,4	198,6
AST	50	39,5	54	77				
ALT	50	26	35	51,3				

Bilirrubinas	50	0,4	0,5	0,7	38	0,5	0,7	1,5
Gama G.T.	45	43,5	89	161,5				
FA	45	76	102	113				
PCR	50	75	130,5	211,8	37	67	148	214,5
LDH	50	409,5	522,5	800,5				
Dímero-D	48	0,8	1,7	4				
Lactato	50	1,2	1,4	1,9	37	1,3	1,8	2,3
CK	48	87	220,5	593				
Potássio	50	4,4	4,7	5,1	38	4,9	5,5	6,0
Sódio	50	138	141	146	38	138	146	153
pH	50	7,3	7,4	7,4	39	7,2	7,2	7,3
pCO ₂	50	34,8	40,5	52	39	41	52	70
HCO ₃	50	20,8	24	26,3	39	18	23	26
PaO ₂	50	56,8	71,5	97,5	39	63,0	77	92
Índice oxigenação	28	72,8	107,5	171	37	76,8	142	189,4
Saturação O ₂	50	87,8	94	97	39	87	93	95

Notas: Valores de referência: hemoglobina 12-16g/dl; leucócitos 3500-10.000mm³; neutrófilos 1700-8000mm³; linfócitos 900-2900mm³; plaquetas 150.000-450.000mm³; TTP 25,4"-38,4"; creatinina: homem 0,66-1,25mg/dl e mulher 0,52-1,04mg/dl; ureia: homem 19-43mg/dl e mulher 15-36mg/dl; AST: homem 14-36U/L e mulher 17-59U/L; ALT: homem <50U/L e mulher <35U/L; bilirrubina total 0,2-1,3mg/dl; Gama G.T: homem 15-73U/L e mulher 12-43U/L; FA 38-126U/L; PCR <10mg/dl; LDH 120-246U/L; Dímero-D <0,5µg/ml; lactato 0,7-2,1mmol/l; CK: homem 55-170U/L e mulher 30-135U/L; potássio 3,5-5,1mmol/l; sódio 137-145mmol/L; pH 7,35-7,45; pCO₂ 34-46mmHG; pO₂ 80-105mmHG; HCO₃ 22-26mEq/L.

Fonte: O autor.

Para a construção das Tabelas 7, 8, 9 e 10 os indivíduos foram separados em 3 grupos, distribuídos a partir das datas de início dos sintomas até a admissão hospitalar. Então, casos com 1 a 9 dias de início dos sintomas na admissão hospitalar foram alocados no grupo estágio agudo; casos com 10 a 15 dias de início dos sintomas na admissão hospitalar no grupo estágio crítico; aqueles com 16 dias ou mais no grupo estágio tardio. Essa divisão em estágios foi baseada no artigo publicado por Zeng *et al.* (2021). O banco de dados tem 38 indivíduos no grupo estágio agudo (76%), 11 no grupo estágio crítico (22%) e 1 no estágio tardio (2%).

Foram realizadas análises dos exames laboratoriais do dia da internação no hospital Eduardo de Menezes (D1) e do dia do óbito (D óbito) usando o teste de

Wilcoxon, que é um teste não paramétrico para dados dependentes (dados do mesmo indivíduo ao longo do tempo).

São 38 indivíduos no grupo estágio agudo, porém nem todos têm dados para os dois momentos (D1 e D óbito). Na frente de cada variável está o total de respondentes que participaram desse teste. Todas as variáveis com $p < 0,05$ tiveram mudanças em seus resultados entre D1 e D óbito. Não apresentaram diferenças plaquetas, PCR, lactato, sódio, HCO_3 , PaO_2 , índice de oxigenação e saturação O_2 . Embora as medianas de PCR não tenham apresentado diferença entre D1 e D óbito ($p 0,524$), devemos considerar que seus valores estão muito acima do valor de referência em ambos os tempos (D1 e D óbito), ou seja, encontram-se elevadas desde a admissão no hospital Eduardo de Menezes. Atenção, também, para PaO_2 e índice de oxigenação que não apresentaram mudanças de resultados entre D1 e D óbito, mas evidenciam hipoxemia em D1 e D óbito. Observa-se PaO_2 abaixo de 80, limite inferior da normalidade, em ambos os tempos e o índice de oxigenação abaixo de 200, refletindo hipoxemias moderada e grave, em D1 e D óbito (ARDS DEFINITION TASK FORCE, 2012; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). Índice de oxigenação é dado pela relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ e na tabela estão os valores avaliados dos pacientes que estavam em VMI. Chama a atenção leucocitose, aumento de bastonetes e aumento de neutrófilos em D óbito. Creatinina e ureia mais expressivamente elevadas em D óbito. Dados apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 - Comparação dos dados laboratoriais de D1 e D óbito dos indivíduos do grupo estágio agudo (casos que tinham de 1 a 9 dias de sintomas na data da admissão hospitalar)

	D1			D Óbito			Valor p*
	Q1	Mediana	Q3	Q1	Mediana	Q3	
Hemoglobina (n = 30)	12,0	12,7	14,9	8,5	11,2	12,1	0,000
Leucócitos (n = 30)	6950	9950	15725	14575	19350	30750	0,000
Neutrófilos (n = 30)	4383,3	7809,0	14337,8	11547,0	15190,5	22805,3	0,000
Linfócitos (n = 30)	697,0	912,5	1243,5	1100,5	2300,0	3492,8	0,000

Bastonetes (n = 30)	0,0	0,0	198,3	75,0	460,5	1115,8	0,000
Plaquetas (n = 30)	15600 0	218500	290500	156250	206000	256250	0,365
Creatinina (n = 31)	0,9	1,4	2,2	1,8	3,0	4,2	0,004
Ureia (n = 31)	59,6	72,4	115,0	140,7	169,4	198,6	0,000
Bilirrubinas (n = 30)	0,4	0,5	0,6	0,5	0,7	1,5	0,002
PCR (n = 29)	67,5	126,0	205,0	72,5	141,0	205,0	0,524
Lactato (n = 29)	1,2	1,4	1,9	1,3	1,5	2,2	0,092
Potássio (n = 30)	4,4	4,8	5,2	4,8	5,3	6,0	0,006
Sódio (n = 30)	138,0	141,5	146,0	138,0	146,0	154,0	0,051
pH (n = 31)	7,3	7,4	7,4	7,2	7,2	7,3	0,001
pCO ₂ (n = 31)	34,0	39,0	51,0	41,0	52,0	71,0	0,001
HCO ₃ (n = 31)	19,0	23,0	26,0	18,0	22,9	26,0	0,999
PaO ₂ (n = 31)	55	70	109	62	76	87	0,899
Índice oxigenação (n = 16)	69,8	117,0	198,3	62,8	109,8	163,0	0,679
Saturação O ₂ (n = 31)	87	94	97	87	93	95	0,285

Notas:*Teste de Wilcoxon de comparação de dois grupos pareados.
Fonte: O autor.

Para o grupo estágio crítico é importante frisar que nem todos os dados estão disponíveis para os 11 indivíduos. Na frente de cada variável está o total de respondentes que participaram desse teste. Todas as variáveis com $p < 0,05$ tiveram mudanças em seus resultados entre D1 e D óbito. Apresentaram diferenças creatinina, ureia, lactato e potássio. Mesmo apresentando mudança de resultado entre D1 e D óbito, lactato apresentou mediana dentro dos valores de referência em ambos os tempos. Creatinina, ureia e potássio evidenciaram piora da função renal ao longo da internação. Análise do índice de oxigenação apresentou $p > 0,05$, ou seja, sem diferença estatística, mas notem que os casos do grupo estágio crítico apresentaram hipoxemia grave em D1, mediana de índice de oxigenação < 100 , e moderada em D óbito, mediana entre 100 – 200, ou seja, o índice de oxigenação comprometido nos dois tempos (ARDS DEFINITION TASK FORCE, 2012; THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017). O mesmo pode ser observado para leucócitos, neutrófilos e PCR que

apresentaram $p > 0,05$, mas valores alterados e acima dos valores de referência em D1 e D óbito. Ocorre linfopenia em D1. Dados apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - Comparação dos dados laboratoriais em D1 e D óbito dos indivíduos do grupo estágio crítico (casos que tinham de 10 a 15 dias de sintomas na admissão hospitalar)

	D1			D óbito			Valor p*
	Q1	Mediana	Q3	Q1	Mediana	Q3	
Hemoglobina (n = 8)	10,2	12,2	14,4	8,7	10,4	12,9	0,161
Leucócitos (n =8)	10175	13500	16750	10750	15550	21469	0,401
Neutrófilos (n = 8)	9441,5	11700,0	14237,5	8501,5	11665,5	18452,5	0,779
Linfócitos (n = 8)	516	860	1296	1330	2499	2916	0,069
Bastonetes (n = 8)	19	247	1169	0	177	278	0,237
Plaquetas (n = 8)	13750	27900	34375	17025	25950	29800	0,674
Creatinina (n = 8)	0,6	1,1	1,8	2,2	3,1	5,6	0,017
Ureia (n = 8)	45,4	61,7	86,4	107,9	166,3	198,0	0,017
Bilirrubinas (n = 8)	0,3	0,6	1,3	0,5	1,1	1,9	0,496
PCR (n = 8)	106,5	181,5	251,3	52,8	188,5	242,5	0,674
Lactato (n = 8)	1,2	1,4	1,6	1,7	2,1	4,3	0,017
Potássio (n = 8)	4,4	4,6	5,1	4,9	5,7	6,0	0,012
Sódio (n = 8)	136,8	140,5	141,0	139,5	146,0	149,3	0,123
pH (n = 8)	7,2	7,4	7,5	7,2	7,2	7,4	0,183
pCO ₂ (n = 8)	35,3	41,0	67,0	40,3	57,5	67,8	0,672
HCO ₃ (n = 8)	23,3	25,5	26,8	15,3	23,5	29,3	0,291
PaO ₂ (n = 8)	60,0	83,5	112,5	73,5	84,0	103,8	0,999
Índice oxigenação (n = 4)	72,5	97,5	108,3	105,3	183,6	223,5	0,144
Saturação O ₂ (n = 8)	88,0	95,5	97,8	88,0	93,5	96,8	0,624

Notas: *Teste de Wilcoxon de comparação de dois grupos pareados.

Fonte: O autor.

Para avaliar diferenças laboratoriais e clínicas significativas entre os grupos estágio agudo e estágio crítico foram comparados D1 dos dois grupos e depois D óbito dos dois grupos. Em ambos os casos, foi aplicado o teste de Mann Whitney.

Em D1 existe diferença entre indivíduos que foram admitidos no estágio agudo e os que foram admitidos no estágio crítico em creatinina e ureia ($p < 0,05$), ambos apresentaram valores de mediana maiores nos casos do grupo estágio agudo. Ambos os grupos apresentaram medianas de PCR $>100\text{mg/L}$, LDH e dímero-D elevados. Não existe diferença estatística entre os índices de oxigenação dos dois grupos, ambos apresentam índices de oxigenação muito baixos sugerindo hipoxemia moderada na admissão. Dados apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 - Comparação de D1 do grupo estágio agudo e estágio crítico

	Fase aguda (n = 38)			Fase crítica (n = 11)			Valor p*
	Q1	Mediana	Q3	Q1	Mediana	Q3	
Hemoglobina	11,7	12,8	14,9	10,8	12,3	14,4	0,422
Leucócitos	6975	9950	15725	7300	11600	16600	0,581
Neutrófilos	5066,3	8530	14127,8	6643	10121	14110	0,472
Linfócitos	629,3	817,5	1178,3	511	912	1344	0,765
Bastonetes	0	0	225	0	76	692	0,459
Plaquetas	140750	175500	285500	145000	241000	331000	0,458
RNI	1	1,1	1,2	1	1,1	1,2	0,593
PTT	25,8	28	32,5	27,7	28,6	31,9	0,640
Creatinina	0,9	1,45	2,2	0,6	1,0	1,2	0,028
Ureia	59,3	75,4	120,9	36,7	46,4	85,4	0,019
AST	41,5	59,5	89,8	33	50	54	0,058
ALT	25	36	54,8	27	32	51	0,971
Bilirrubinas	0,4	0,5	0,7	0,3	0,5	1,1	0,923
Gama G.T.***	43	89	153	45,5	98	203	0,819
FA***	78	103	112	66	98	125,5	0,977
PCR	67,8	129,5	215	90	167	204	0,465
LDH	409,5	538,5	814,5	390	424	575	0,187
Dímero-D****	0,8	1,8	5	0,5	1,4	2,4	0,310

Lactato	1,2	1,4	2	1,2	1,4	1,6	0,299
CK****	94,5	239	670	66,8	103	683,8	0,202
Potássio	4,4	4,8	5,2	4,1	4,5	4,9	0,139
Sódio	138	141	146,3	139	141	142	0,421
pH	7,3	7,4	7,41	7,3	7,4	7,5	0,203
pCO ₂	33,8	41	52	36	40	58	0,675
HCO ₃	18,8	23	26,3	24	25	27	0,112
PaO ₂	55,8	70,5	98,5	57	83	105	0,598
Índice oxigenação**	68	109	147	79,5	139	183	0,335
Saturação O ₂	87	94	96,3	89	94	98	0,456

Notas: *Teste de Mann Whitney; **Índice de oxigenação tem 20 respostas para a estágio agudo e 7 respostas para estágio crítico***35 respostas para estágio agudo e 9 para a estágio crítico; ****37 respostas para estágio agudo e 10 para a estágio crítico.

Fonte: O autor.

No dia do óbito, a única diferença entre os dois grupos foi no índice de oxigenação que era menor no grupo de fase aguda (p < 0,05).

Tabela 10 - Comparação do D óbito dos grupos estágio agudo e estágio crítico

	Fase aguda (n = 31)			Fase crítica (n = 8)			Valor p*
	Q1	Mediana	Q3	Q1	Mediana	Q3	
Hemoglobina**	8,5	11,2	12,1	8,7	10,4	12,9	0,686
Leucócitos**	14575	19350	30750	10750	15550	21468,8	0,221
Neutrófilos**	11547	15190,5	22805,3	8501,5	11665,5	18452,5	0,150
Linfócitos**	1100,5	2300	3492,8	1330	2499	2916	0,930
Bastonetes**	75	460,5	1115,8	0	177	278	0,082
Plaquetas**	156250	206000	256250	170250	259500	298000	0,332
Creatinina	1,8	3	4,2	2,2	3,1	5,6	0,573
Ureia	140,7	169,4	198,6	107,9	166,3	198,0	0,932
Bilirrubinas**	0,5	0,7	1,45	0,5	1,1	1,9	0,661
PCR***	72,5	141	205	52,8	188,5	242,5	0,786
Lactato***	1,3	1,5	2,2	1,7	2,1	4,3	0,148
Potássio**	4,8	5,3	6	4,9	5,7	6	0,562
Sódio**	138	146	154	139,5	146	149,3	0,635
pH	7,2	7,23	7,4	7,2	7,2	7,4	0,878
pCO ₂	41	52	71	40,3	57,5	67,8	0,959
HCO ₃	18	22,9	26	15,3	23,5	29,3	0,959
PaO ₂	62	76	87	73,5	84	103,8	0,209
Índice oxigenação***	73,8	126,2	176	149	183,6	228,0	0,029
Saturação O ₂	87	93	95	88	93,5	96,8	0,527

Notas: *Teste de Mann Whitney; **Exames com 30 respondentes na fase aguda; ***Exames com 29 respondentes na fase aguda.
Fonte: O autor.

6.3 Escores prognósticos

Foram calculados os escores SOFA e APACHE II.

A mediana para APACHE II nas primeiras 24 horas de admissão no hospital Eduardo de Menezes foi de 21 (variação 16 – 25), apresentado na Tabela 3.

O SOFA de D1 (dia da admissão no CTI), D3 (48 horas da admissão no CTI), D5 (96 horas da admissão no CTI) e D Óbito (dia do óbito) foram calculados para os 50 indivíduos da amostra. Para o cálculo do SOFA foi usada a Escala de Coma Glasgow para pontuar o sistema neurológico e a razão PaO₂/FiO₂ para pontuar sistema respiratório. Avaliação dos prontuários mostrou que os indivíduos que foram admitidos em ventilação espontânea apresentavam ECG 14 ou 15. Os dados do SOFA são apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 – Evolução do escore SOFA nas primeiras 96 horas de admissão no CTI do hospital Eduardo de Menezes, calculados para o primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5) dias de internação e para o dia do óbito (D óbito) dos indivíduos incluídos no estudo.

SOFA	D1 (n = 49)	D3 (n = 46)	D5 (n = 39)	D óbito (n = 38)
0 - 6	59,2%	52,2%	38,5%	5,3%
7 - 9	34,7%	34,8%	43,6%	39,5%
10 - 12	6,1%	6,5%	17,9%	42,1%
13 - 14	00%	6,5%	00%	10,5%
15 - 24	00%	00%	00%	2,6%

Fonte: O autor.

6.4 Infecções concomitantes

Hemoculturas foram obtidas de 38 indivíduos. Amostras de 10 (26,3%) indivíduos apresentaram crescimento bacteriano. As bactérias foram *Staphylococcus coagulase negativa* em 8 (21,0%) indivíduos, *Staphylococcus aureus* em 1 (2,6%) e *Stenotrophomonas maltophilia* em outro (2,6%).

Culturas de aspirados traqueais foram obtidas de 31 indivíduos. Amostras de 26 (83,8%) indivíduos tiveram crescimento de patógenos, sendo, *Acinetobacter*

baumannii em 12 (38,7%), *Pseudomonas spp.* em 8 (25,8%), *Candida spp.* em 7 (22,5%), *Staphylococcus aureus* em 6 (19,3%), *Klebsiella spp.* em 5 (16,1%), *Stenotrophomonas maltophilia* em 2 (6,4%), *Enterococcus spp.* em 2 (6,4%), *Proteus mirabilis* em 1 (3,2%) e *Enterobacter gergoviae* em outro. Uma amostra com *Proteus mirabilis* e duas amostra com *Klebsiella spp.* eram bactérias produtoras de carbapenemase (9,6%).

Culturas de pontas de cateteres vasculares profundos foram obtidas de 24 indivíduos. Amostras de 9 (37,5%) indivíduos tiveram crescimento de bactérias. As bactérias encontradas foram *Staphylococcus coagulase negativa* em 6 (25%) indivíduos, *Acinetobacter baumannii* em 2 (8,3%), e 1 (4,1%) *Enterococcus spp.*

Uroculturas foram obtidas de 18 indivíduos. Amostras de 9 indivíduos tiveram crescimento de patógenos. Em amostras de 8 indivíduos houve crescimento de *Candida spp.*, *Escherichia coli* cresceu em 1 e *Pseudomonas spp.* em outra.

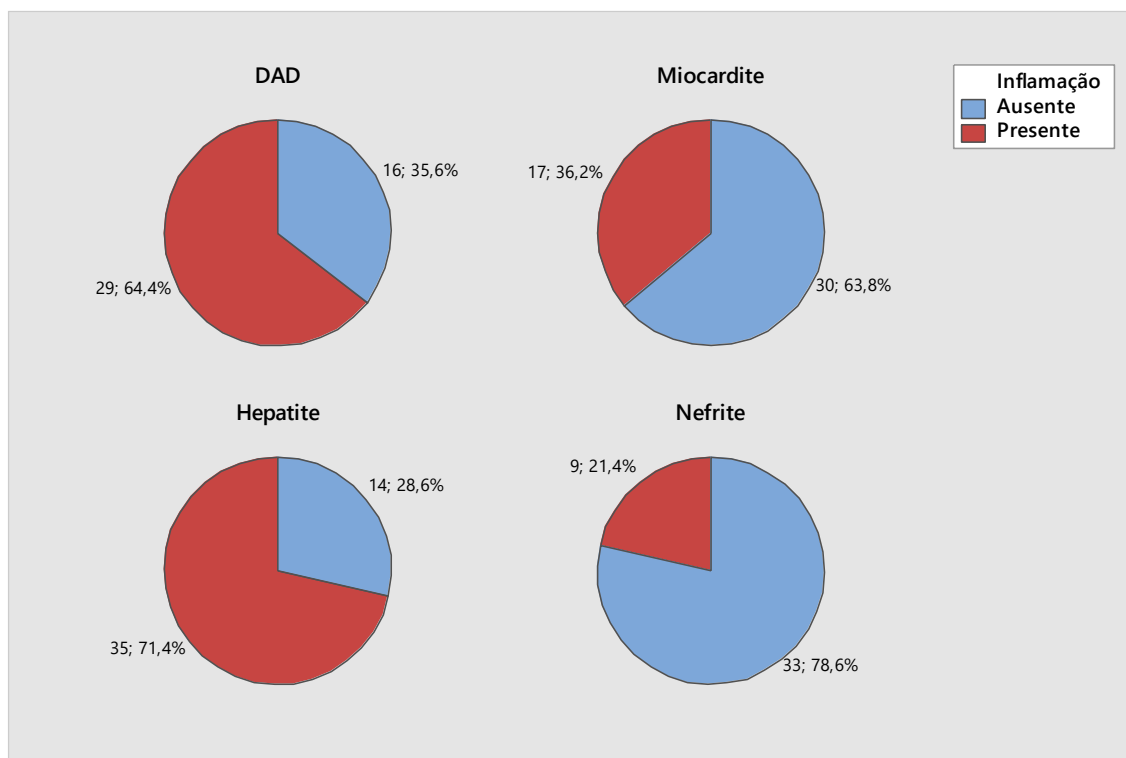
6.5 Associação das lesões histopatológicas aos fatores prognósticos

6.5.1 Descrição das lesões histopatológicas e da imuno-histoquímica

A seguir serão apresentados os principais achados histopatológicos observados na amostra de 50 indivíduos falecidos com diagnóstico confirmado de COVID-19 e submetidos a autópsias minimamente invasivas no CTI do Hospital Eduardo de Menezes (HEM), Minas Gerais, Brasil.

O estudo encontrou o pulmão como órgão mais intensamente acometido e com maior grau de intensidade de resposta inflamatória. Dano alveolar difuso (DAD) – foi a principal lesão histológica observada nos pulmões. Os rins foram os órgãos mais extensamente comprometidos, com evidências de necrose tubular e de alterações degenerativas como dilatação tubular, degeneração vacuolar e redução da borda em escova observadas em todas as amostras. Sincronicamente, observado acometimento inflamatório de múltiplos órgãos e os achados histopatológicos foram: DAD, nefrite intersticial, miocardite e hepatite. Essas principais alterações histopatológicas encontradas são apresentadas na Figura 3 abaixo:

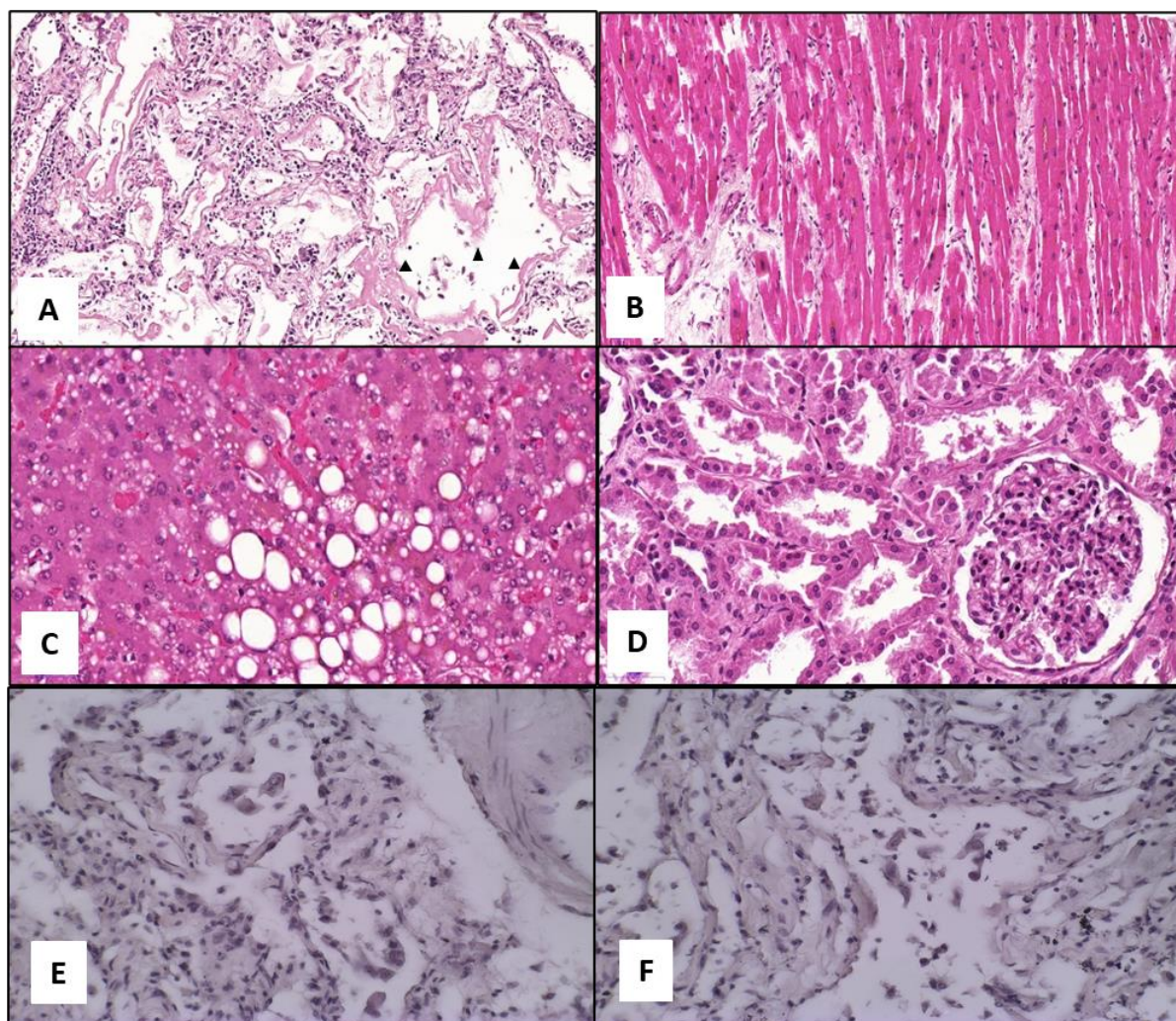
Figura 3 – Gráficos de setores das principais lesões histopatológicas observadas nas autópsias minimamente invasivas. Ao lado de cada parte de setor estão indicados o n amostral e o seu respectivo percentual. DAD: Dano alveolar difuso.



Fonte: O autor.

A Figura 3 evidencia a proporção de acometimento tecidual por sistema. O DAD, observado em 29 (64,4%) de 45 indivíduos, representa o achado simultâneo de exsudato inflamatório misto, deposição de fibrina na forma de membranas hialinas e edema dos septos e espaços alveolares. A miocardite, observada em 17 (36,2%) de 47 indivíduos, representa focos intersticiais de infiltrado inflamatório misto, predominantemente linfocitários, além de edema. A hepatite, em 35 (71,4%) de 49 indivíduos, é caracterizada por esteato-hepatite ou presença de focos de infiltrado inflamatório misto associados à esteatoses macro e/ou microvacuolar. Nos rins, do ponto de vista inflamatório, a nefrite intersticial em 9 (21,4%) de 42 indivíduos representa a presença de infiltrado inflamatório misto, predominantemente mononuclear e ao nível dos túbulos e interstício renal. A imuno-histoquímica evidenciou fraca reatividade em somente 2 (4%) amostras de pulmão. (Figura 4).

Figura 4 - Aspectos histopatológicos das autópsias minimamente invasivas.

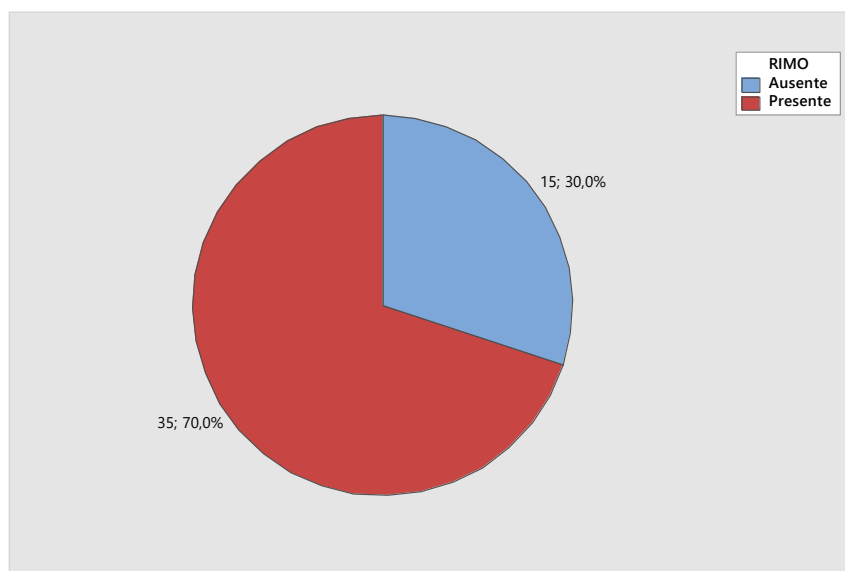


Notas: A. Pulmão. Fase exsudativa do dano alveolar difuso, com infiltrado inflamatório mononuclear nos septos e membrana hialina (cabeça de seta). B. Coração. Discretos edema e infiltrado inflamatório mononuclear intersticial; C. Fígado. Esteatoses macro e microvacuolar. D. Rim. Dilatação tubular, degeneração vacuolar, redução da borda em escova e necrose das células dos túbulos proximais. E e F. Imunorreatividade para SARS-CoV-2 em pneumócitos e macrófagos alveolares (A. H&E x100; B, C e D, H&E x400, E e F x 400).

Fonte: O autor.

Conforme descrito no tópico Metodologia, para melhor estudar esse comprometimento inflamatório simultâneo de vários órgãos nos adoecidos por COVID-19, foi elaborada a classificação histopatológica resposta inflamatória em múltiplos órgãos – RIMO. A RIMO representa o encontro simultâneo de dano inflamatório em 3 ou mais dos sistemas (respiratório, circulatório, hepático e renal) ou órgãos (pulmão, coração, fígado, rim) estudados. A Figura 5 representa a proporção de RIMO observada nas amostras do estudo.

Figura 5 – Gráfico de setor da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). Ao lado de cada parte de setor estão indicados o n amostral e o seu respectivo percentual.



Fonte: O autor.

A Figura 5 mostra que 35 (70,0%) de 50 indivíduos apresentaram RIMO, evidenciando acometimento simultâneo de múltiplos órgãos. Dessa forma, a variável RIMO, juntamente com DAD, representam as principais variáveis de desfecho do estudo.

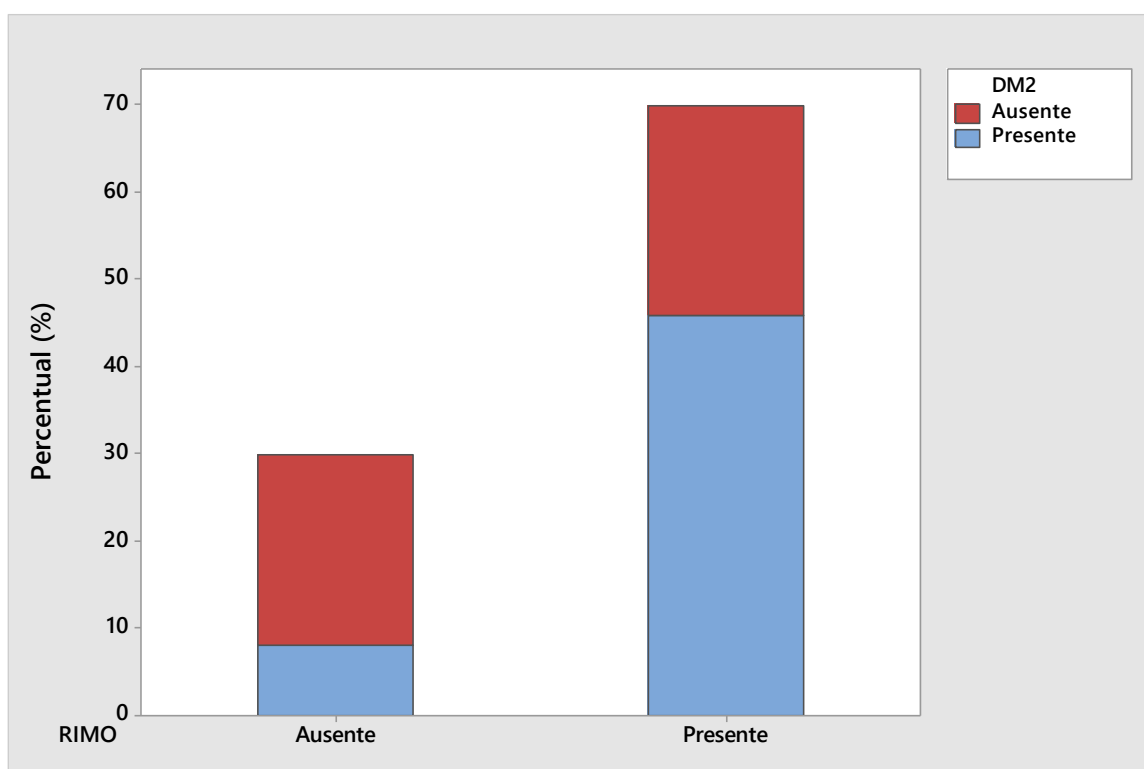
6.5.2 Análise da idade, sexo, evolução e comorbidades (DM2, HAS, obesidade e síndrome metabólica [SMET])

A seguir, são apresentadas as relações entre as características clínicas e alterações laboratoriais com os principais achados histológicos, com ênfase em DAD e RIMO.

As características clínicas avaliadas foram: idade > 65 anos, sexo, tempo de evolução (dias entre início dos sintomas e internação hospitalar \leq ou $>$ 9 dias; dias entre início dos sintomas e óbito \leq ou $>$ 16 dias), dispneia, DM, HAS, obesidade, síndrome metabólica (SMET), cada uma delas foi comparada para verificar correlação ou não com DAD e RIMO. Abaixo são apresentadas somente as correlações que mostraram $p < 0,05$. As demais características clínicas, embora presentes na amostra estudada e citadas na revisão da literatura como associados ao risco de doença grave

e mortalidade, não apresentaram significância estatística na correlação a DAD e RIMO.

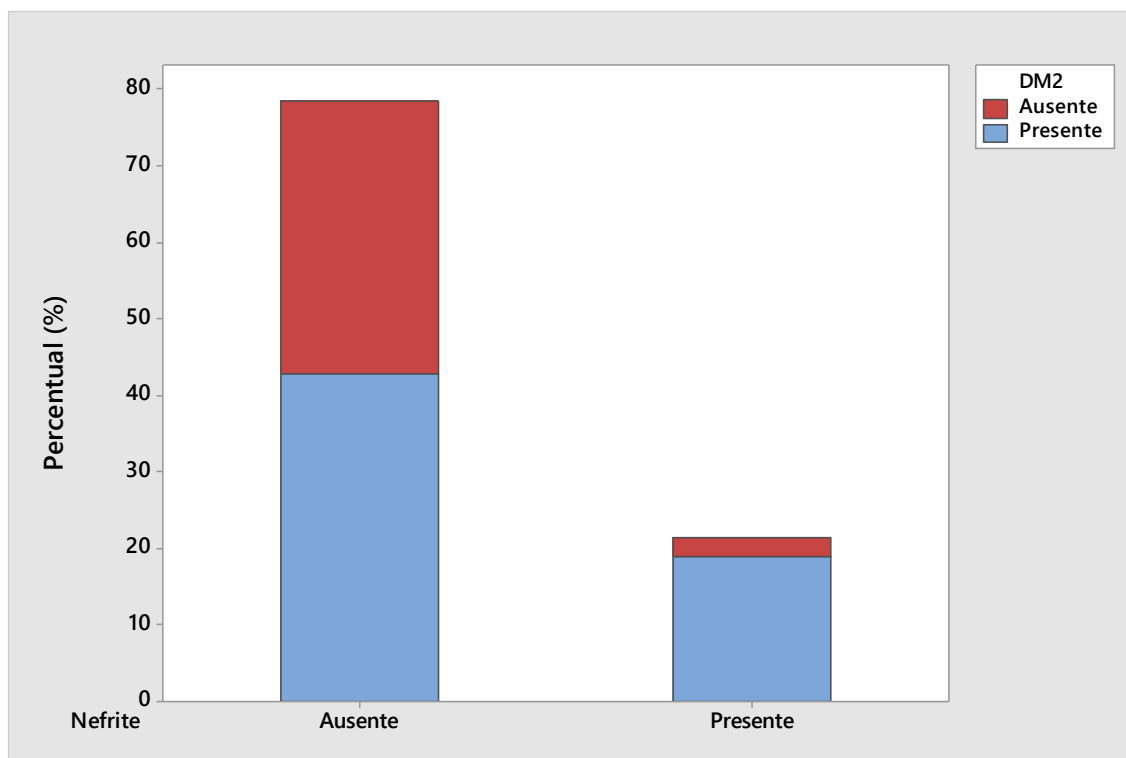
Figura 6 – Gráfico de barras do percentual de relato de Diabetes Mellitus (DM2) pela ocorrência da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,005.



Fonte: O autor.

A Figura 6 acima mostra que 70% (35 de 50 indivíduos) apresentaram RIMO e desses 35 indivíduos a maioria era de diabéticos, aproximadamente 70% de DM2 no grupo RIMO (p 0,005). Nota-se que 30% (15 de 50 indivíduos) não apresentaram RIMO e a grande maioria era de não diabéticos.

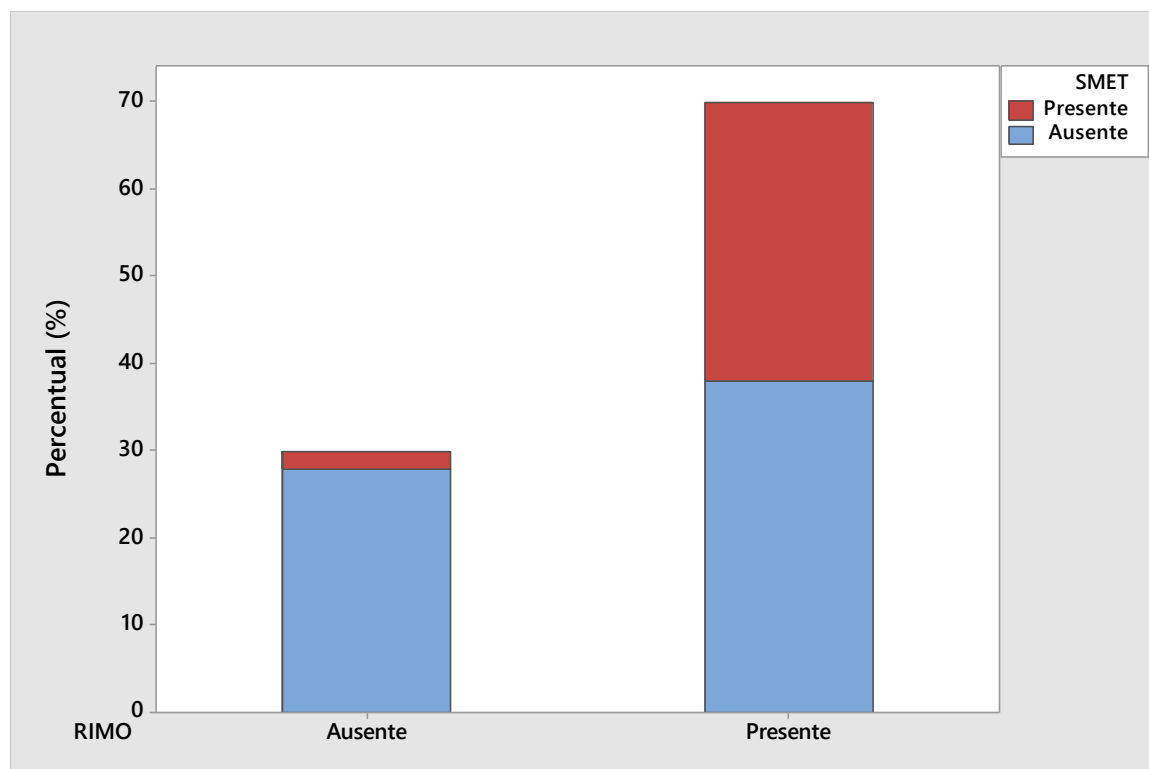
Figura 7 – Gráfico de barras do percentual de relato de Diabetes Mellitus (DM2) pela ocorrência da Nefrite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,012.



Fonte: O autor.

A Figura 7 acima mostra que, cerca de 21% (9 de 42 indivíduos) apresentaram Nefrite e, desses 9 indivíduos, aproximadamente 90% eram diabéticos (p 0,012). Nota-se que 79% (33 de 42 indivíduos) não apresentaram Nefrite e, desses 33 indivíduos, aproximadamente 60% eram diabéticos.

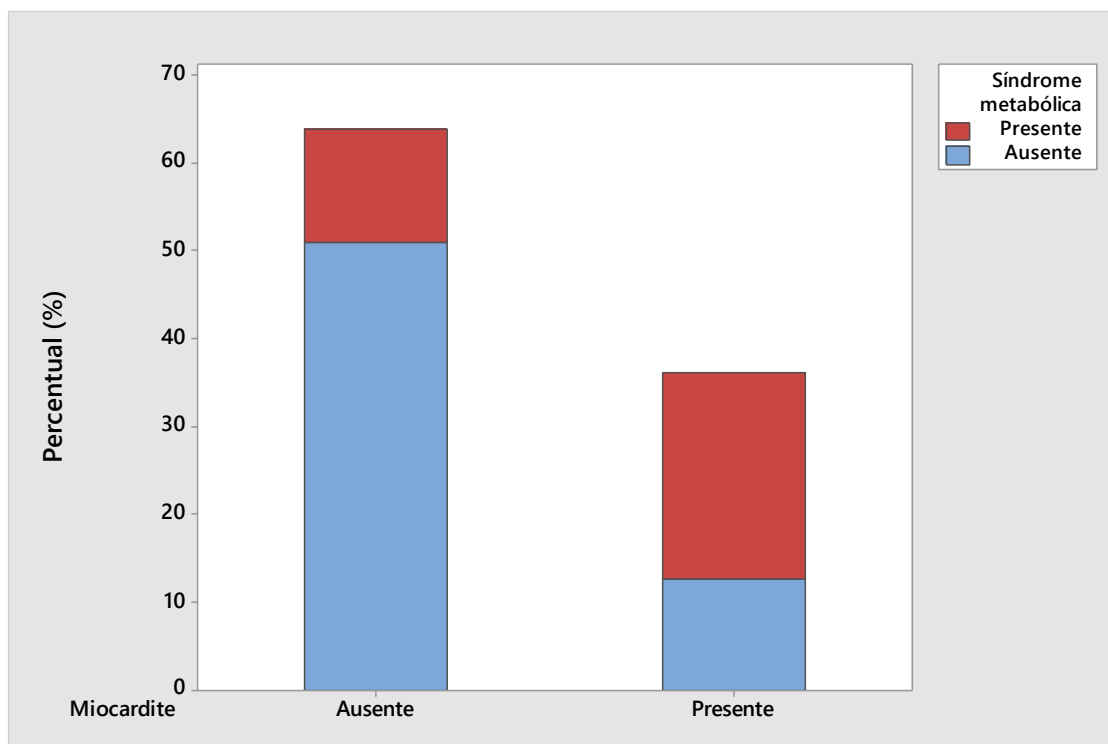
Figura 8 – Gráfico de barras do percentual de relato de síndrome metabólica (SMET) pela ocorrência da resposta inflamatória em múltiplos órgãos (RIMO). A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,009.



Fonte: O autor.

A Figura 8 acima mostra que 70% (35 de 50 indivíduos) apresentaram RIMO e, desses 35 indivíduos, aproximadamente 40% tinham síndrome metabólica (SMET) ($p = 0,009$). Nota-se que 30% (15 de 50 indivíduos) não apresentaram RIMO e, desses 15 indivíduos, aproximadamente 90% não tinha SMET.

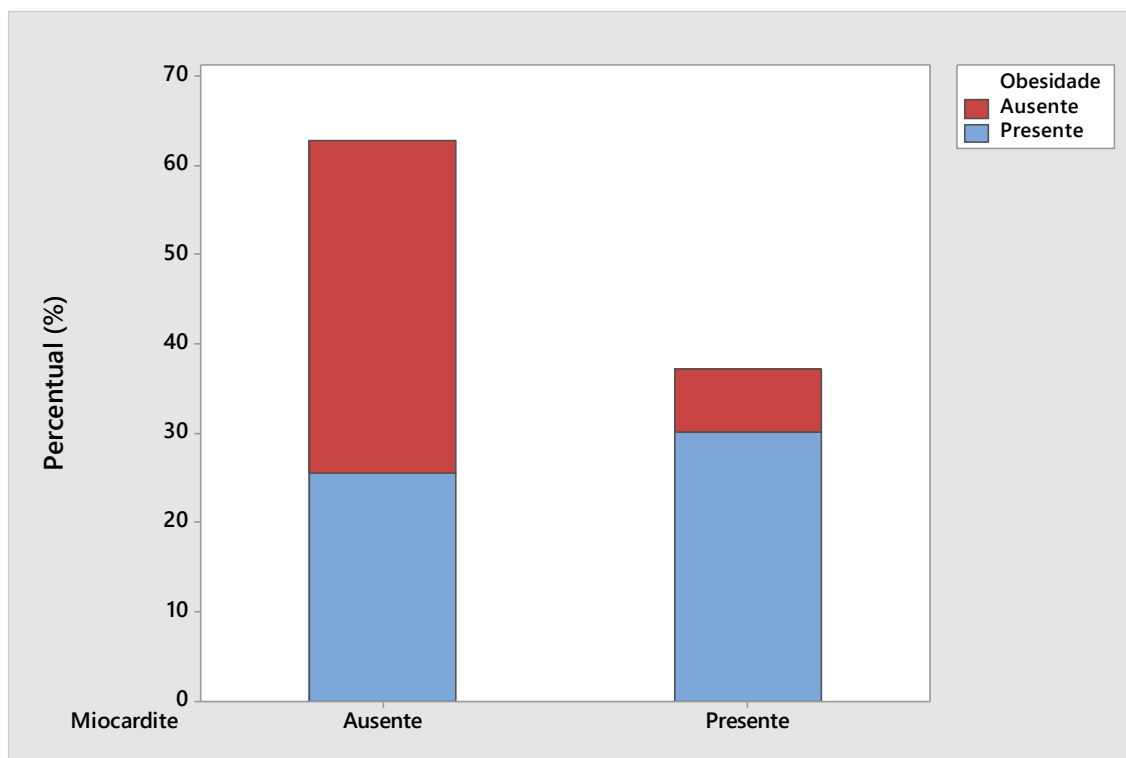
Figura 9 – Gráfico de barras do percentual de relato de síndrome metabólica (SMET) pela ocorrência de miocardite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,001.



Fonte: O autor.

A Figura 9 acima mostra que, 36% (17 de 47 indivíduos) apresentaram miocardite e, desses 17 indivíduos, aproximadamente 60% tinham síndrome metabólica (SMET) ($p = 0,001$). Nota-se que, 64% (30 de 47 indivíduos) não apresentaram miocardite e, desses 30 indivíduos, aproximadamente 70% não tinham SMET.

Figura 10 – Gráfico de barras do percentual de relato de obesidade pela ocorrência de miocardite. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve P-Value = 0,005.



Fonte: O autor.

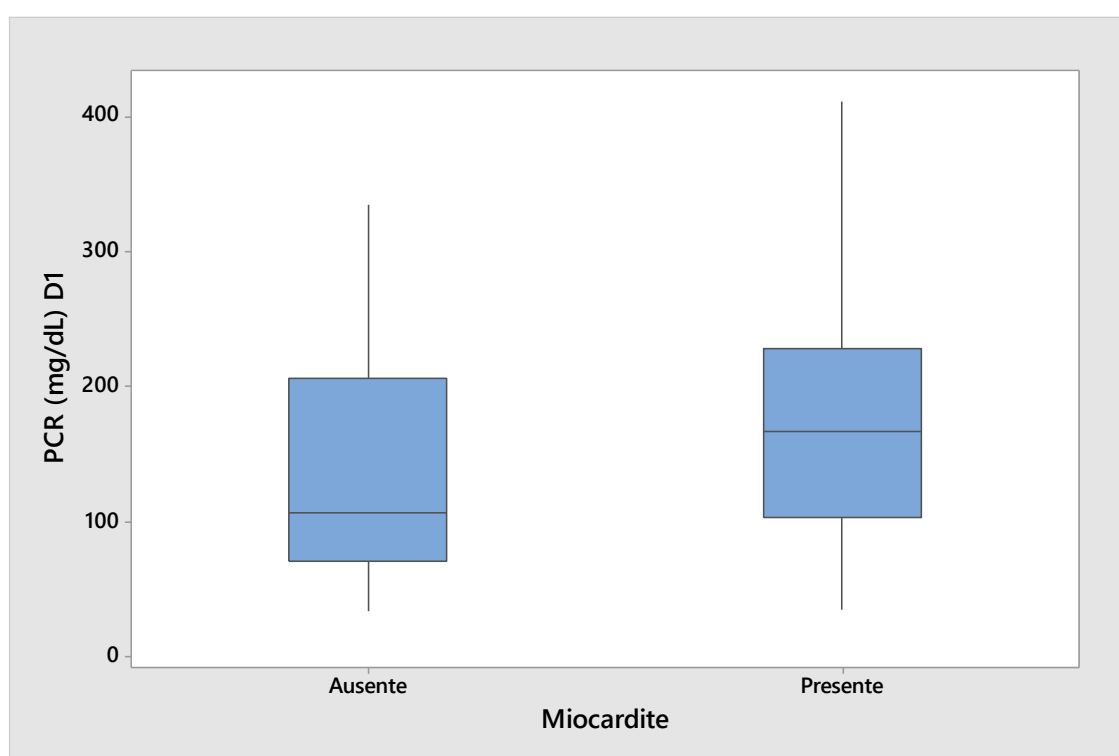
A Figura 10 acima mostra que 36% (17 de 47 indivíduos) apresentaram miocardite e, desses 17 indivíduos, aproximadamente 80% tinham obesidade ($p < 0,005$). Nota-se que, 64% (30 de 47 indivíduos) não apresentaram miocardite e, desses 30 indivíduos, aproximadamente 60% não tinham obesidade.

6.5.3 Análise de biomarcadores laboratoriais selecionados (creatinina, ureia, dímero-D, LDH, leucócitos, linfócitos, neutrófilos, PCR e índice de oxigenação)

Os biomarcadores laboratoriais avaliados foram: dímero-D na admissão, LDH na admissão, linfopenia na admissão, leucocitose na admissão e no dia do óbito, neutrofilia na admissão e no dia do óbito, PCR na admissão, creatinina e ureia na admissão, cada um deles foi comparada para verificar correlação ou não com DAD, RIMO, miocardite e nefrite. Abaixo está apresentada somente PCR, que mostrou correlação estatisticamente significativa com miocardite ($p < 0,028$). Os demais

biomarcadores laboratoriais, embora estivessem alterados na admissão e sejam citados na revisão da literatura como associados a risco de doença grave e mortalidade, não apresentaram significância estatística na correlação a DAD e RIMO.

Figura 11 – Boxplots da proteína C reativa (PCR) no primeiro dia (D1) pela ocorrência de miocardite. A comparação das médias de PCR entre os grupos de miocardite, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, foi observado P-Value = 0,028.



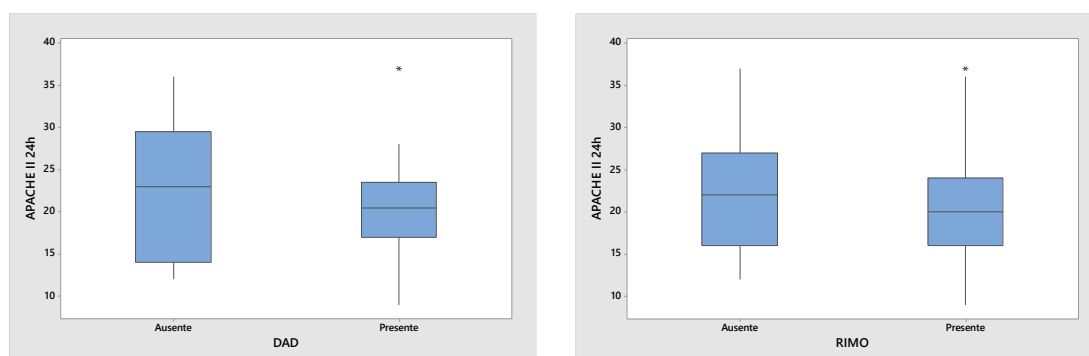
Fonte: O autor.

A Figura 11 acima mostra que PCR elevada na admissão, acima de 100mg/L, foi associada à ocorrência de miocardite (*p-Value* = 0,028).

6.5.4 Análise dos escores prognósticos (APACHE II, SOFA)

Os escores de estimativa de prognóstico e mortalidade avaliados foram: APACHE II e SOFA. Foram analisados para verificar correlação ou não com DAD e RIMO. Resultados apresentados abaixo.

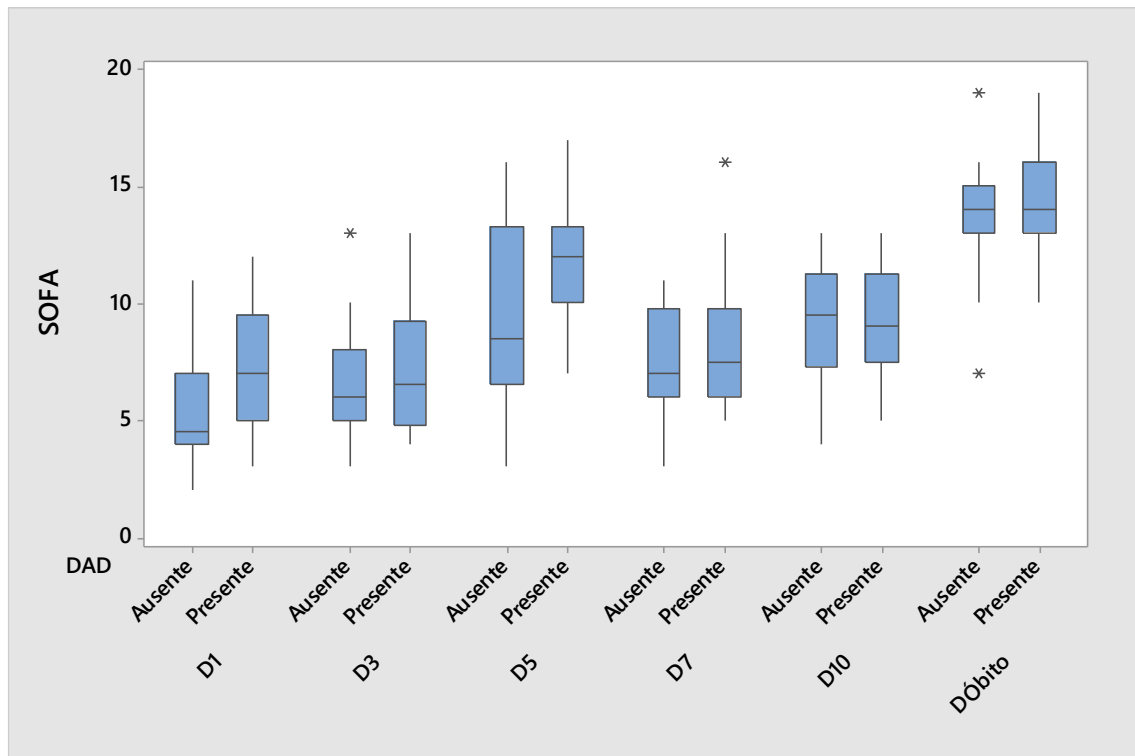
Figura 12 – Boxplots do escore APACHE II em 24h de internação intensiva pela ocorrência de DAD (a) e RIMO (b). A comparação das médias do escore APACHE II entre os grupos de DAD e de RIMO, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. DAD: Dano alveolar difuso. RIMO: Resposta inflamatória em múltiplos órgãos.



Fonte: O autor.

A Figura 12 acima mostra que o escore APACHE II nas primeiras 24 horas de admissão no CTI não foi associado ao desenvolvimento de DAD ou RIMO. Não houve associação estatisticamente significativa de APACHE II com DAD e RIMO.

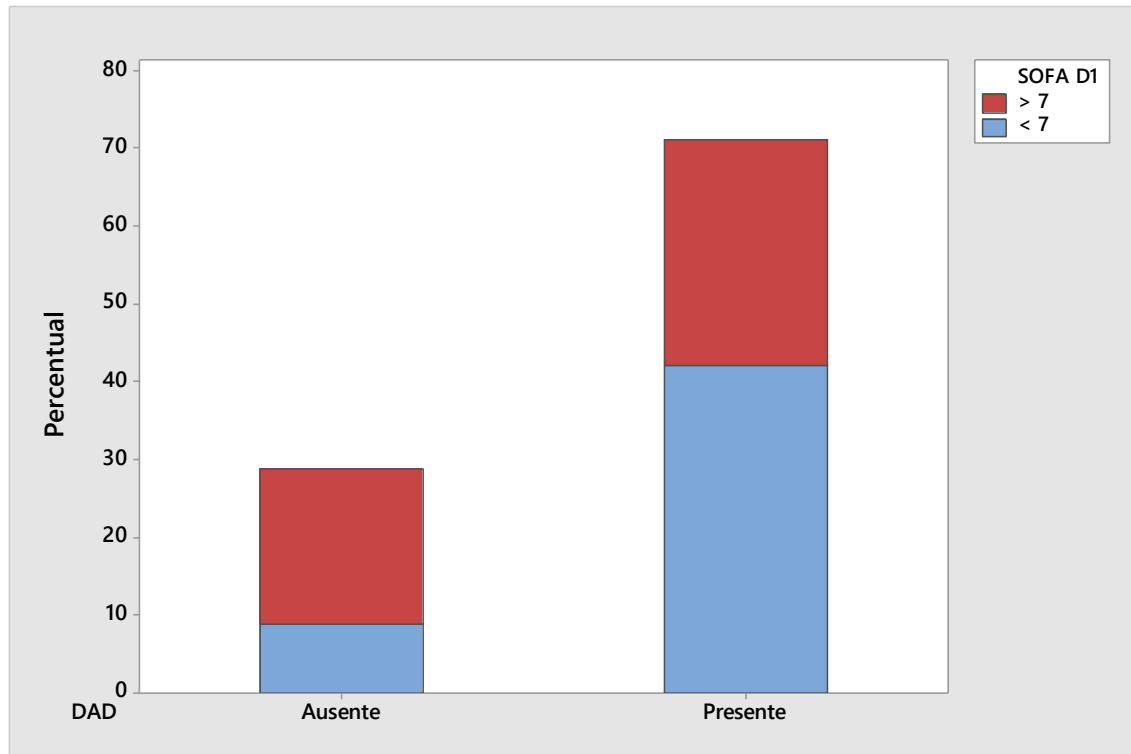
Figura 13 – Boxplots do escore SOFA no primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5), sétimo (D7) e décimo (D10) dias de internação intensiva e no dia do óbito (D óbito) pela ocorrência de DAD. A comparação de todas as médias do escore SOFA entre os grupos de DAD, pelo Teste t, não encontrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, no D5, obteve P-Value = 0,055.



Fonte: O autor.

A Figura 13 acima mostra que os escores SOFA no 1º, 3º e 5º dias de internação no CTI e no dia do óbito não apresentou associação estatisticamente significativa com DAD ($p > 0,055$).

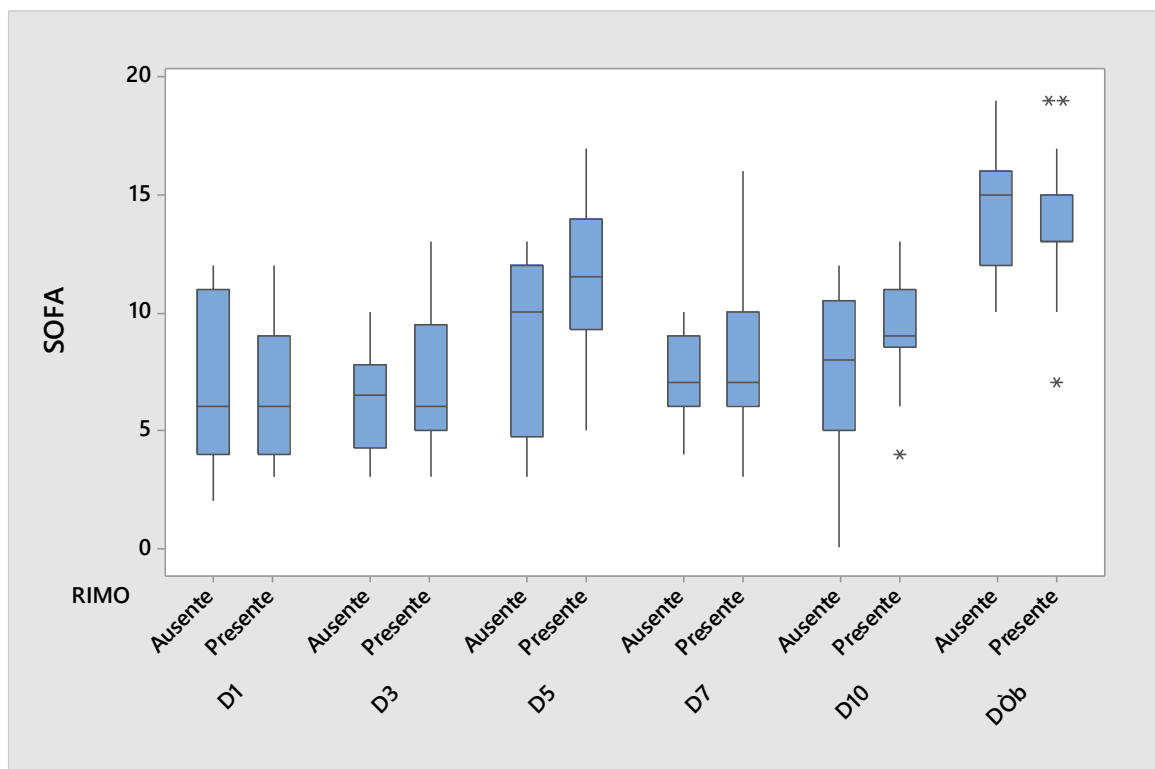
Figura 14 – Gráfico de barras do percentual da categorização de SOFA no primeiro dia de internação intensiva (D1) pela ocorrência de DAD. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher não obteve diferença significativa. Entretanto, encontrou P-Value = 0,082.



Fonte: O autor.

A Figura 14 acima mostra que 71,11% (32 de 45 indivíduos) apresentaram DAD e desses 13 indivíduos (40,63%) tinham SOFA > 7 pontos (p 0,082). Nota-se que 28,89% (13 de 45 indivíduos) não apresentaram DAD e desses 4 indivíduos (30,77%) tinham SOFA < 7 pontos.

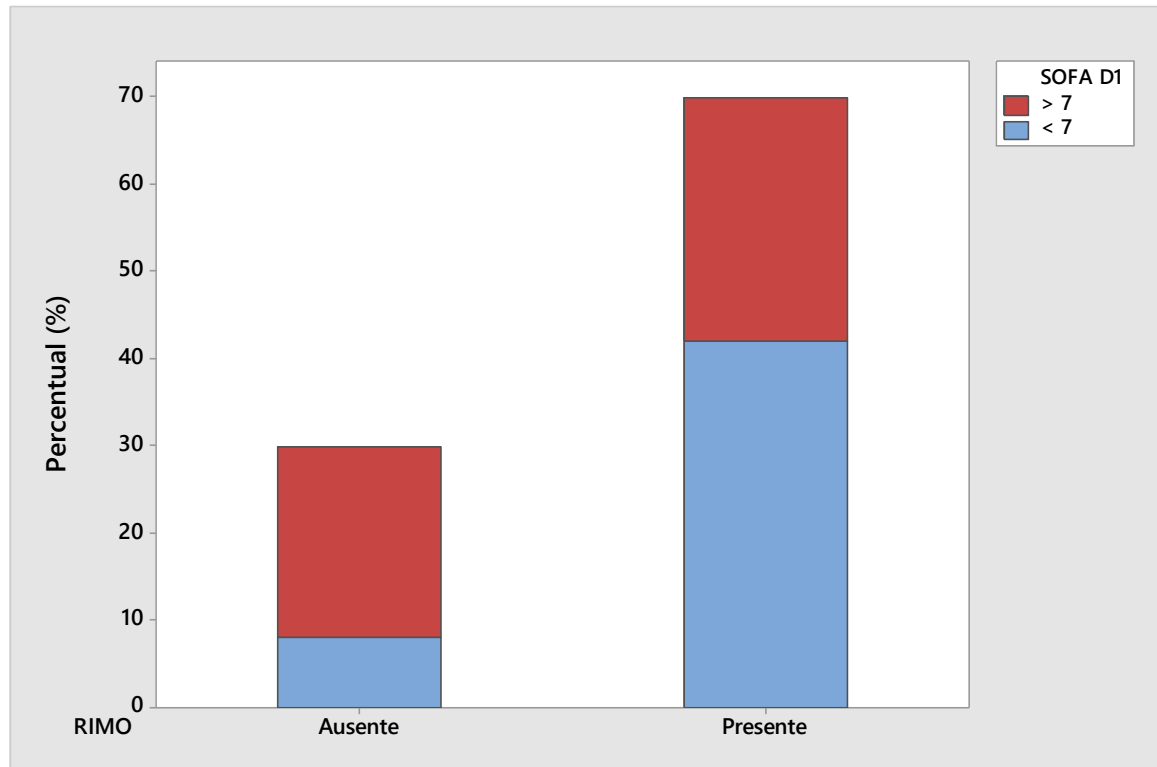
Figura 15 – Boxplots do escore SOFA no primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5), sétimo (D7) e décimo (D10) dias de internação intensiva e no dia do óbito (D óbito) pela ocorrência de RIMO. A comparação de todas as médias do escore SOFA entre os grupos de RIMO, pelo Teste t, encontrou diferença estatisticamente significativa no D5 (P-Value = 0,028). Nos demais dias, não foram observadas diferenças significativas.



Fonte: O autor.

A Figura 15 acima mostra que o escore SOFA no 5º dia de internação em CTI apresentou associação estatisticamente significativa com RIMO (p 0,028). Não houve associação estatisticamente significativa de SOFA no 1º e 3 dias de internação no CTI com RIMO.

Figura 16 – Gráfico de barras do percentual da categorização de SOFA no primeiro dia de internação intensiva (D1) pela ocorrência de RIMO. A comparação das proporções pelo Teste exato de Fisher obteve diferença estatisticamente significativa (P-Value = 0,031). RIMO: Resposta inflamatória em múltiplos órgãos.



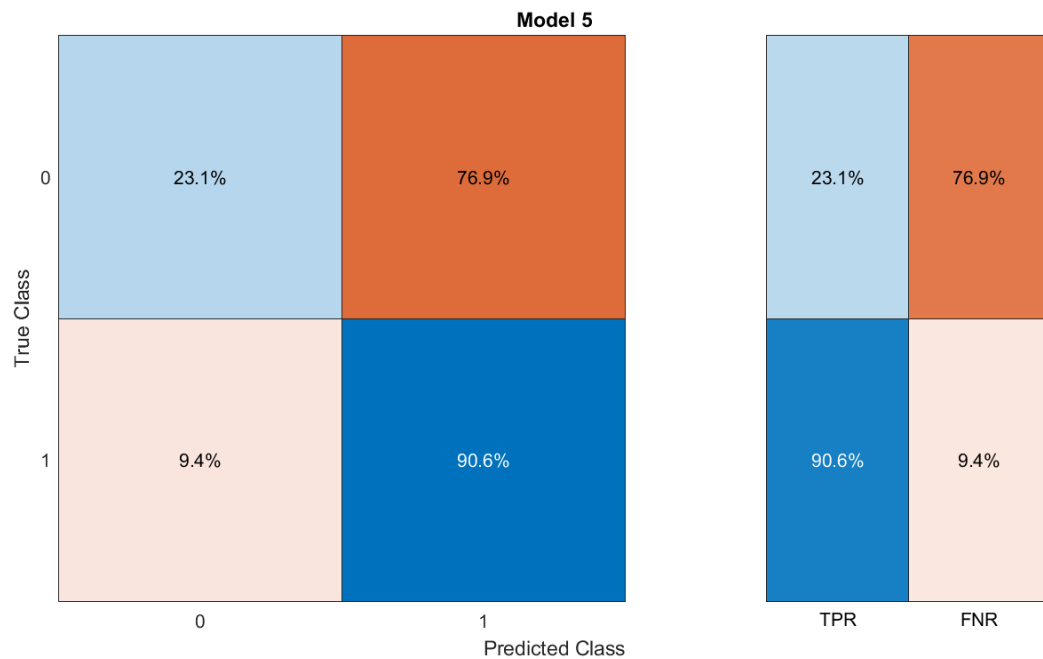
Fonte: O autor.

A Figura 16 acima mostra que 70% (35 de 50 indivíduos) apresentaram RIMO e desses 35 indivíduos aproximadamente 40% tinham SOFA > 7 pontos (p 0,031). Nota-se que 30% (15 de 50 indivíduos) não apresentaram RIMO e desses 15 indivíduos aproximadamente 30% tinham SOFA < 7 pontos.

6.5.5 Modelos preditivos

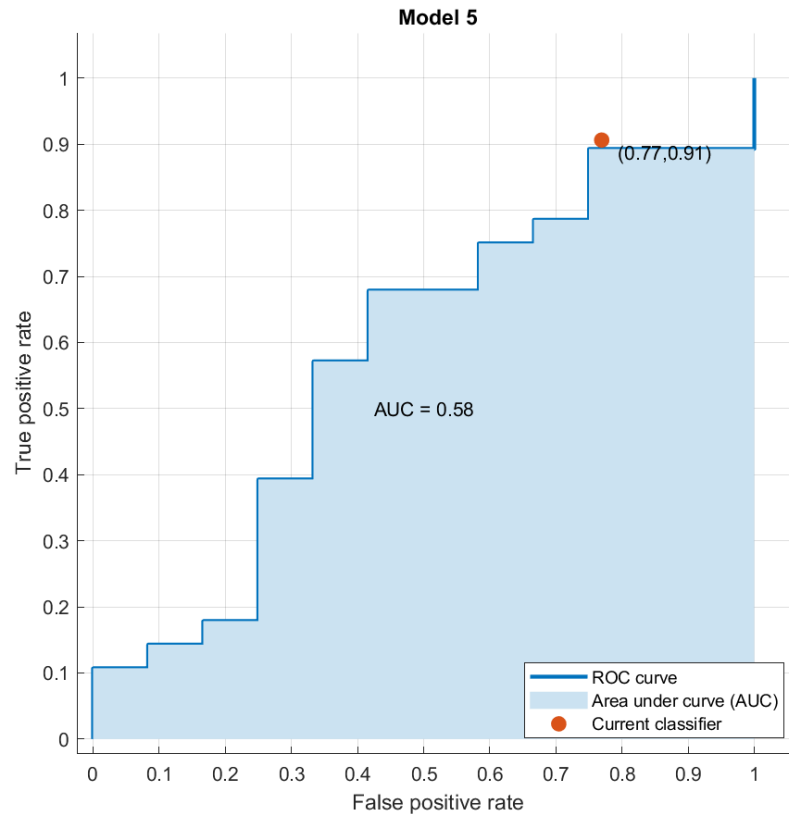
A Figura 17 A apresenta o modelo preditivo para DAD que evidenciou, em azul intenso, 90,6% de probabilidade de associação entre os fatores selecionados (DM2, obesidade, KDIGO 24H, APACHE II, SOFAD1, leucócitos D1, PCR D1, LDH D1, índice de oxigenação D1) com acurácia de 71,1% para a ocorrência de DAD, por a análise multivariada discriminante linear. Em seguida, na Figura 17 B, observa-se a curva ROC do referido modelo que traz a representação gráfica da sensibilidade no eixo vertical e especificidade no eixo horizontal com área sob a curva (AUC) de 58%.

Figura 17 - Modelo preditivo para DAD



A

Fonte: O autor.



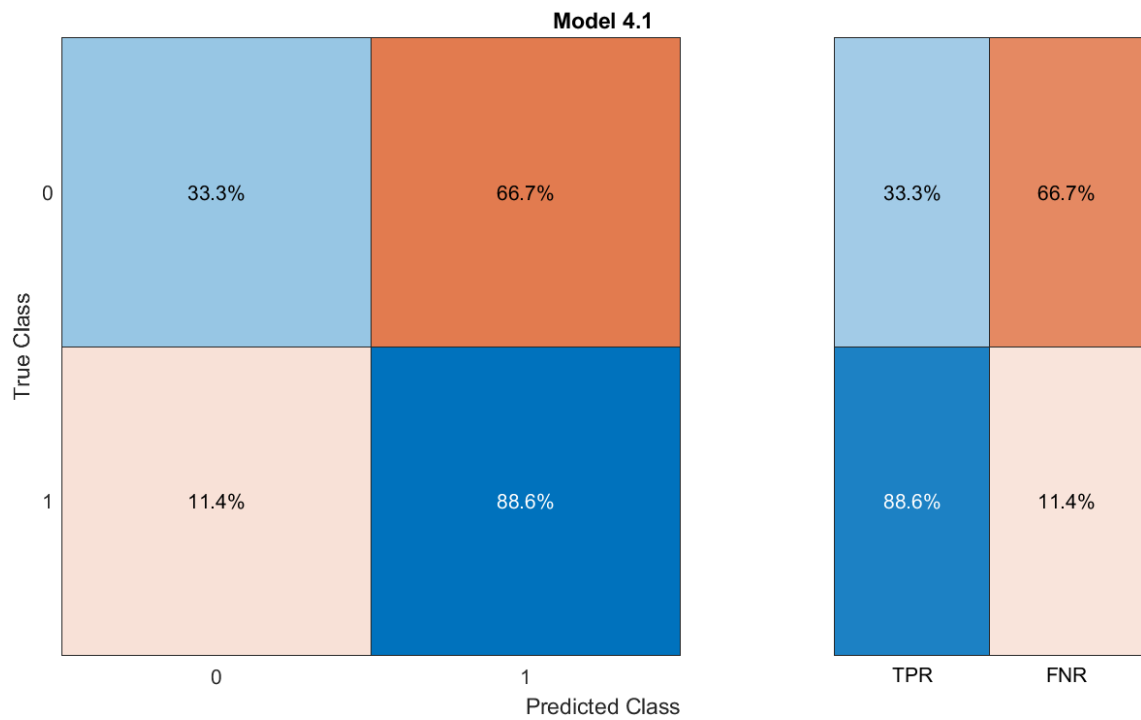
B

Notas: Análise discriminante linear: Acurácia de 71,1%. (DM2, obesidade, KDIGO 24H, APACHE II, SOFA D1, leucócitos D1, PCR D1, LDH D1, índice de oxigenação D1).

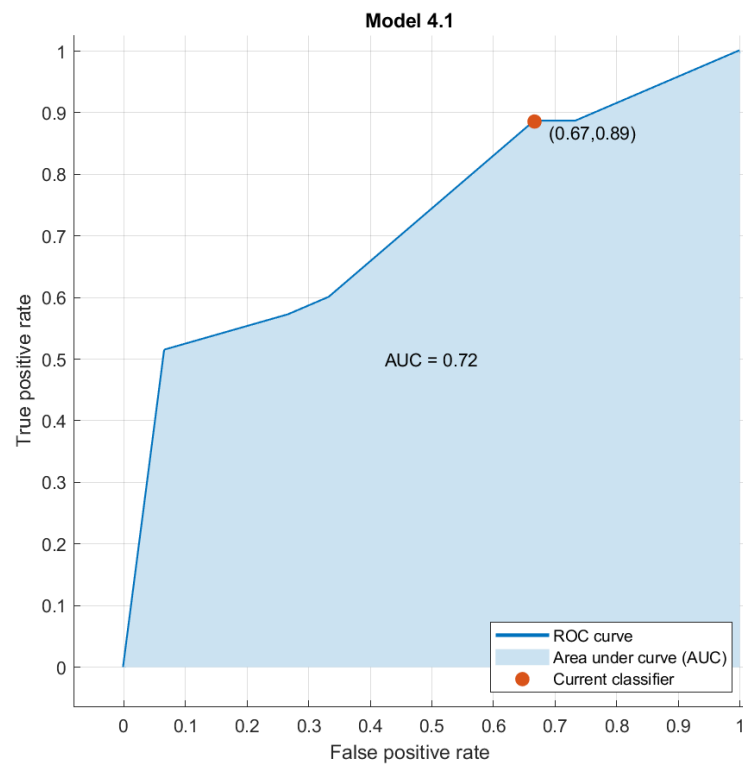
Fonte: O autor.

A Figura 18 A apresenta o modelo preditivo para RIMO que mostrou, em azul intenso, 88,6% de probabilidade de associação entre os fatores selecionados (DM2, obesidade, KDIGO 24H, APACHE II, SOFA D1, leucócitos D1, PCR D1, LDH D1, índice de oxigenação D1) com acurácia de 72% para a ocorrência de RIMO, por análise multivariada discriminante linear. Em seguida, na Figura 18 B, observa-se a curva ROC do referido modelo que traz a representação gráfica da sensibilidade no eixo vertical e especificidade no eixo horizontal com AUC de 72%.

Figura 18 - Modelo preditivo para RIMO



A



B

Notas: Análise discriminante linear: Acurácia de 72,0%. (DM2, obesidade, KDIGO 24H, APACHE II, SOFA D5, leucócitos D5, PCR D5, índice de oxigenação D5).

Fonte: O autor.

7. DISCUSSÃO

O estudo que desenvolvemos apresenta uma avaliação clinicopatológica da COVID-19 fatal, abrangendo dados clínicos-demográficos, laboratoriais, radiológicos e os principais achados histopatológicos de uma amostra de 50 indivíduos submetidos a procedimento de autópsia minimamente invasiva. As amostras de tecidos dos órgãos foram coletadas nas primeiras 4 horas após a ocorrência do óbito, à beira do leito em unidade de terapia intensiva, por médico plantonista da unidade. Encontramos o pulmão como órgão mais intensamente acometido e com maior grau de resposta inflamatória. Dano alveolar difuso (DAD) foi a principal lesão histológica observada nos pulmões. Os rins foram os órgãos mais extensamente comprometidos, com evidências de necrose tubular e de alterações degenerativas como dilatação tubular, degeneração vacuolar e redução da borda em escova observadas em todas as amostras. Cerca de 21,4% de 42 indivíduos apresentaram nefrite intersticial. Sincronicamente, havia acometimento inflamatório em múltiplos órgãos e os achados histopatológicos principais foram: DAD, nefrite intersticial, miocardite e hepatite. Em acordo com os dados apresentados, o primeiro estudo histopatológico por autópsia minimamente invasiva realizado no Brasil, por Duarte-Neto *et al.*, em 2020, com 10 indivíduos incluídos, mostrou que a COVID-19 é uma doença sistêmica que acomete múltiplos órgãos como os rins, fígado, coração, cérebro e, principalmente, o pulmão, sendo o DAD a lesão pulmonar mais frequente (DUARTE-NETO *et al.*, 2020). Duarte-Neto *et al.* (2020) atribuem os achados extrapulmonares a: 1 – comorbidades, como HAS e DM, caracterizados como esclerose de arteríolas renais, hipertrofia de cardiomiócitos, fibrose de miocárdio, esclerose glomerular focal, esteatose hepática, doença de pequenos vasos cerebrais; 2 - achados atribuídos ao choque, como congestão hepática centrolobular e lesão tubular renal aguda e; 3 - achados de etiologias incertas, podendo ser secundários a infecção pelo SARS-CoV-2, inflamação sistêmica ou choque e caracterizados como infiltrado mononuclear perivascular superficial na pele, miosite, orquite, miocardite linfomononuclear leve, alterações endoteliais de pequenos vasos, hipoplasia linfóide no baço, glomerulopatia mesangial, células hepáticas de Kupffer reativas e microtrombos de fibrina em glomérulos, pele, sinusóides hepáticos e coração. Outro estudo, realizado na Índia, com 21 indivíduos falecidos com COVID-19, submetidos a autópsias clássicas completas, encontrou

acometimento de múltiplos órgãos. Entre eles, acometimento pulmonar em mais de 90,4% dos casos, nos rins encontrou necrose tubular renal aguda (76,1% dos casos) e no fígado inflamação linfocítica periportal (95,23%) e esteatose hepática (81%). A presença de RNA viral, por RT-PCR, foi observada em todos os órgãos, incluindo pulmões (75%), rins (66,6%) e fígado (57,1%) (YADAV *et al.*, 2022). Importantes revisões de literatura também destacaram o comprometimento tecidual de múltiplos órgão em doentes falecidos com COVID-19 (PEIRIS *et al.*, 2021; CARAMASCHI *et al.*, 2021).

A amostra estudada foi composta por doentes encaminhados ao CTI do HEM, sendo que 38 foram encaminhados ao CTI com tempo \leq 72 horas da admissão em unidades de pronto-atendimento, o que mostra evolução rápida desses casos graves, e 12 foram encaminhados de outros hospitais e unidades de saúde onde tinham sido admitidos há mais de 72 horas. Apresentaram idade média de 65 anos e discreta maioria do sexo masculino. As comorbidades mais prevalentes foram HAS, DM, obesidade, doenças pulmonares e cardíacas crônicas e 82% dos participantes relataram portar duas ou mais comorbidades. Esse perfil de idade avançada e comorbidades segue as características de risco para doença grave e maior mortalidade por COVID-19 mostrada na revisão da literatura (ZHENG *et al.*, 2020; RICHARDSON *et al.*, 2020; SETIATI *et al.*, 2020; GRASSELLI *et al.*, 2020). São comorbidades pertencentes ao grupo da síndrome metabólica (HAS, DM, dislipidemia, hipertrigliceridemia e obesidade) e que em estudos prévios mostraram um perfil inflamatório crônico de baixo grau, desviando permanentemente o sistema imunológico para um fenótipo pró-inflamatório (SALTIEL; OLEFSKY, 2017). As comorbidades que compõem a síndrome metabólica mostram-se associadas às formas graves de COVID-19. Síndrome metabólica foi associada ao aumento do risco de SDRA, internação em CTI, necessidade de VMI, hospitalização prolongada e morte, sendo que cada critério adicional da síndrome foi associado ao aumento do risco de SDRA (DENSON *et al.*, 2021).

Os sintomas mais frequentemente informados na admissão da amostra estudada no HEM foram dispneia, tosse e febre, sendo que 100% dos incluídos no estudo relataram dispneia. Dispneia é uma informação subjetiva, comumente relatada em situações diversas, como estresse emocional e físico. Mas, dispneia pode ocorrer também como um dado objetivo e secundária a comprometimento / lesão pulmonar. No contexto de COVID-19, outros dados como frequência respiratória, grau de esforço

respiratório, imagem de tórax, saturação de oxigênio e PaO₂ auxiliam na avaliação de gravidade da COVID-19 (NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH, 2022). Na admissão, os doentes apresentavam quadro respiratório grave e hipoxemia, 100% necessitaram suplementação de oxigênio e a mediana de saturação de oxigênio foi de 89% (variação de 84% a 91%). Verificamos que 28 (56%) necessitavam VMI na admissão (incluídos os indivíduos entubados nas primeiras 24 horas de admissão no CTI do HEM e aqueles admitidos entubados encaminhados de outras unidades de saúde) e o índice de oxigenação (razão PaO₂/FiO₂) na admissão no CTI teve mediana de 107,5 (variação de 72,8 a 171). Estudos e revisões de literatura mostram os três sintomas citados acima entre os mais frequentemente relatados na admissão hospitalar. Önal *et al.* (2022) informaram que os sintomas mais comuns encontrados na hospitalização em 257 indivíduos foram: tosse (49,5%), febre (42%) e dispneia (38,9%) (ÖNAL *et al.*, 2022). Zheng *et al.* (2020) encontraram em uma amostra de 75 indivíduos que evoluíram a óbito que os sintomas mais frequentes na admissão hospitalar foram: febre (76%), tosse (58,67%), falta de ar (33,33%), astenia (28%), aperto no peito (26,67%) (ZHENG *et al.*, 2020). Dispneia tem sido associada a doença grave e aumento da mortalidade (ZHENG *et al.*, 2020; JAIN; YUAN, 2020), mas também são descritos casos de “hipoxemia silenciosa”, ou seja, hipoxemia com mínimos ou ausência de sinais ou sintomas respiratórios (GATTINONI *et al.*, 2020).

Na amostra estudada, 38 (76%) de 50 indivíduos foram internados nos primeiros 9 dias de início dos sintomas e 31 (62%) evoluíram a óbito nos primeiros 16 dias de início dos sintomas, outro dado que mostra evolução rápida das formas graves. A literatura sobre COVID-19 mostra que a hospitalização ocorre geralmente entre o 6° e 8° dias de sintomas (CEVIK *et al.*, 2020) e que doença grave por COVID-19 geralmente se desenvolve a partir do 8° dia de doença (HU *et al.*, 2021). A amostra estudada foi composta, principalmente, por indivíduos idosos e portadores de comorbidades, fatores de risco para desfechos desfavoráveis como evolução grave e morte (ZHENG *et al.*, 2020; RICHARDSON *et al.*, 2020; SETIATI *et al.*, 2020; GRASSELLI *et al.*, 2020). A principal causa de hospitalização dos incluídos no nosso estudo foi síndrome respiratória com hipoxemia e, como informado anteriormente, 38 (76%) desses indivíduos foram encaminhados ao CTI com tempo ≤ 72 horas de admissão em unidades de pronto-atendimento. Idade > 60 anos e comorbidades aumentam o risco de desenvolver síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) e morte (WU *et al.*, 2020). As comorbidades da síndrome metabólica foram frequentes

na amostra estudada e, em estudo anterior à COVID-19, cada critério adicional da síndrome foi associado ao aumento do risco de SDRA (DENSON *et al.*, 2021).

A análise laboratorial de admissão no HEM evidenciou, como principais alterações, linfopenia (linfócitos $< 1100\text{mm}^3$) e níveis aumentados de PCR, LDH, dímero-D, creatinina e ureia. Linfopenia foi associada a quadros infecciosos virais em estudos prévios. Estudos com vírus influenza A e B mostraram presença de linfopenia em pacientes hospitalizados por formas graves da doença (CHENG *et al.*, 2019; LALUEZA *et al.*, 2019) e, na discussão do estudo, Cheng *et al.* (2019) alertam para contagens absolutas de linfócitos $< 800\text{mm}^3$ como atenção para infecção grave (CHENG *et al.*, 2019). Linfopenia foi associada a maiores riscos de doença grave e de mortalidade em doentes com COVID-19 (SETIATI *et al.*, 2020). Outro estudo mostrou linfopenia $< 1,1 \times 10^9/\text{L}$ associada a maiores riscos de doença grave e de mortalidade (CHIDAMBARAM *et al.*, 2020). O baço é um dos órgãos afetados pela COVID-19. Estudo histológico de baço de 161 doentes encontrou depleção de linfócitos, necrose parenquimatosa, atrofia de polpa branca, esplenite aguda, infiltração de neutrófilos e hemofagocitose nas amostras (CARAMASCHI *et al.*, 2021). O dano alveolar difuso, lesão mais frequente encontrada nos estudos histológicos de doentes falecidos com COVID-19, está associado a um estado de hipercoagulabilidade (THOMPSON; CHAMBERS; LIU, 2017; TEUWEN *et al.*, 2020; PEIRIS *et al.*, 2021). Dímero-D é um produto da degradação da fibrina e pode se elevar nesta condição. A lactato desidrogenase (LDH) é um marcador de lesão tecidual e inflamação. Como a LDH é uma enzima presente em todos os principais sistemas orgânicos, a atividade sérica anormal da LDH aumentada auxilia como indicador de distúrbios da integridade celular de diversos sistemas de órgãos (DRENT *et al.*, 1996). Creatinina e ureia séricas apresentaram medianas acima dos valores de referência na admissão no CTI, o que mostra algum grau de insuficiência renal aguda na admissão. Interessante observar que as principais alterações laboratoriais encontradas nos exames disponíveis de admissão da amostra no CTI do HEM, e citadas acima, foram compatíveis com as alterações laboratoriais descritas na revisão de literatura como alterações associadas a riscos de evolução para doença grave e morte (ZHENG *et al.*, 2020; SETIATI *et al.*, 2020; CHIDAMBARAM *et al.*, 2020). Chama a atenção o índice de oxigenação - IO (razão $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) evidenciando hipoxemia. Na admissão no CTI do HEM todos os 50 indivíduos apresentaram IO calculados abaixo de 300mmHg e aqueles em VMI apresentaram mediana de IO de

107,5mmHg, compatível com hipoxemia moderada a grave (ARDS DEFINITION TASK FORCE *et al.*, 2012). Baixa razão PaO₂/FiO₂ (abaixo de 200mmHg e, principalmente, abaixo de 100mmHg) na admissão em CTI foram fatores independentes associados à mortalidade (GRASSELLI *et al.*, 2020). Na admissão no HEM, as diferenças laboratoriais significativas entre os doentes com até 9 dias do início dos sintomas na admissão e aqueles com mais de 9 dias foram em creatinina (p 0,028) e ureia (p 0,019) séricos, ambas apresentaram valores de mediana maiores naqueles com menos de 9 dias de doença na admissão. Os hospitalizados com menos de 9 dias de início dos sintomas apresentavam, portanto, além de disfunção respiratória, algum grau de disfunção renal.

Ao analisar os resultados laboratoriais e clínicos da internação no CTI do HEM, nota-se que ao longo da internação houve progressão da disfunção de múltiplos órgãos. Constatamos a progressão da disfunção renal na amostra estudada, o que também foi encontrado na revisão da literatura (BEIGMOHAMMADI *et al.*, 2022). Creatinina sérica apresentou aumento expressivo ao longo da internação e o percentual de doentes com critérios de insuficiência renal aguda aumentou de 62% na admissão para 98% durante a internação. Na admissão, 38% necessitaram de aminas vasoativas, já ao longo da internação 90% necessitaram fazer uso. Nota-se, também, aumento da necessidade de suporte ventilatório e 92% necessitaram VMI ao longo da internação. Na admissão, 2 (4%) de 50 indivíduos tinham bilirrubinas totais acima de 1,3mg/dl, que é o limite superior da normalidade. No dia do óbito 11 (29%) de 38 indivíduos tinham bilirrubinas totais acima de 1,3mg/dl. Ao avaliar a tabela de SOFA, notamos que com o passar dos primeiros dias de internação (primeiras 24 horas da admissão - D1, 48 horas de admissão - D3, 96 horas - D5) houve progressão, aumento percentual do SOFA, em direção a pontuações acima de 6. A análise de correlação do escore SOFA no primeiro (D1), terceiro (D3), quinto (D5), sétimo (D7) e décimo (D10) dias de internação intensiva e no dia do óbito (D óbito) pela ocorrência de RIMO encontrou diferença estatisticamente significativa no D5 (P-Value = 0,028). RIMO (resposta inflamatória em múltiplos órgãos) definida como acometimento de 3 ou mais sistemas de órgãos. Nos demais dias, não foram observadas diferenças significativas. A mesma análise do escore SOFA pela ocorrência de DAD não encontrou diferença estatisticamente significativa. Entretanto, no D5, obteve P-Value = 0,055. Os escores prognósticos SOFA inicial e APACHE II, calculados nas primeiras 24 horas de admissão no CTI podem subestimar disfunções orgânicas em evolução.

A disfunção máxima renal, hepática e da coagulação pode desenvolver ao longo de dias, de modo que a pontuação de SOFA inicial e nas primeiras 48 horas podem não refletir a extensão total da disfunção orgânica (MORENO *et al.*, 1999). Um estudo que avaliou as tendências da pontuação de SOFA nas primeiras 96 horas de admissão no CTI mostrou mortalidade de pelo menos 50% quando a pontuação aumentou, independentemente da pontuação inicial (FERREIRA *et al.*, 2001). Beigmohammadi *et al.* (2022) desenvolveram um estudo com 204 doentes graves com COVID-19 e avaliaram pontuações APACHE II e pontuações SOFA média como preditores prognóstico na COVID-19. As pontuações do APACHE II foram realizadas nas primeiras 24 horas de internação e as de SOFA realizadas diariamente. Aplicaram a curva ROC para verificar os melhores pontos de corte para as pontuações APACHE II e SOFA média. Com ponto de corte de 13 para APACHE II e 5 para SOFA, o SOFA médio diário teve melhor desempenho preditivo ($P \leq 0,001$) e verificaram que tendência ascendente na pontuação SOFA avaliada diariamente aumenta significativamente a mortalidade em pacientes em CTI de COVID-19, mas não podiam prever a morte com alta precisão (BEIGMOHAMMADI *et al.*, 2022).

Somado a isso, diversos fatores podem contribuir para o agravamento das disfunções orgânicas em terapia intensiva, por exemplo, fatores como manejo de doente grave em VMI, uso de medicações com potenciais de neurotoxicidade, nefrotoxicidade, miotoxicidade e hepatotoxicidade (como antimicrobianos, amins vasoativas, drogas sedativas, bloqueadores musculares) e infecções relacionadas a assistência à saúde. Encontramos que no dia do óbito, 34 (89%) de 38 indivíduos tinham leucocitose >10.000 , 32 (84%) de 38 tinham neutrofilia > 8000 , 8 (21%) de 38 tinham linfopenia < 1100 . Em seu estudo histopatológico na COVID-19, Duarte-Neto *et al.* (2020) encontraram que 6 de 10 indivíduos apresentaram pneumonia supurativa secundária (DUARTE-NETO *et al.*, 2020). No estudo que apresentamos, encontramos que ao longo da hospitalização, 88% dos indivíduos necessitaram antimicrobianos de amplo espectro (como vancomicina, Polimixina, aminoglicosídeos, Tazocim) e, de 29 doentes, 25 (86%) tiveram hipótese diagnóstica de pneumonia associada a assistência à saúde.

Encontramos no dia do óbito, dano alveolar difuso presente em 29 (64,4%) de 45 indivíduos, miocardite em 17 (36,2%) de 47, hepatite em 35 (71,4%) de 49 e nefrite intersticial em 9 (21,4%) de 42 e toda amostra apresentou sinais de necrose tubular. Os principais achados histológicos nesse estudo foram DAD e RIMO. A RIMO

representa o encontro simultâneo de dano inflamatório em 3 ou mais dos sistemas (respiratório, circulatório, hepático e renal). Foram realizadas análises de correlações entre as principais características clínicas e alterações laboratoriais da amostra estudada com os principais dados histológicos encontrados para a mesma amostra, com ênfase em DAD e RIMO, mas também avaliados miocardite e nefrite. Os resultados mostraram que idade > 65 anos, sexo, tempo de evolução (dias entre início dos sintomas e internação hospitalar \leq ou $>$ 9 dias; dias entre início dos sintomas e óbito \leq ou $>$ 16 dias), HAS, obesidade, dispneia e os principais exames alterados na admissão no CTI do HEM (dímero-D, LDH, linfopenia, leucócitos, neutrófilos, PCR, creatinina sérica e ureia) não apresentaram correlação estatística com DAD e RIMO ($p > 0,05$). RIMO mostrou correlação estatisticamente significativa com síndrome metabólica e DM ($p 0,009$ e $p 0,005$, respectivamente), 90% dos que desenvolveram nefrite eram diabéticos ($p 0,012$); houve correlação entre miocardite e síndrome metabólica ($p 0,001$), miocardite e obesidade ($p 0,005$). Os resultados encontrados alertam para risco de resposta inflamatória em múltiplos órgãos, associada a comorbidade do grupo da síndrome metabólica, principalmente DM e obesidade, e ao fenótipo inflamatório associado (SALTIEL; OLEFSKY, 2017).

Em relação à imuno-histoquímica, mesmo com teste molecular confirmando a infecção por SARS-CoV-2 em amostras de vias aéreas de todos os incluídos no estudo que desenvolvemos, foi observada reatividade em somente duas biópsias pulmonares, exatamente dos indivíduos que evoluíram para óbito na primeira semana de internação no CTI do HEM. Esses resultados são consistentes com outros estudos histopatológicos em que a detecção do SARS-CoV-2 no tecido pulmonar foi observada até 2 semanas do início da infecção. Uma explicação é que o SARS-COV-2 se replica menos eficientemente no parênquima pulmonar, quando comparado ao epitélio da nasofaringe (MERDJI *et al.*, 2021). A amostra do estudo que desenvolvemos apresentou mediana de 7 dias (variação 4,5 – 9 dias) entre o início dos sintomas até internação hospitalar e de 16 dias (variação 12,5 – 20 dias) do início dos sintomas até o óbito. Revisão da literatura mostrou que a detecção viral por imuno-histoquímica foi mais provável nos primeiros 10 a 14 dias de início dos sintomas, na fase mais aguda do DAD e não no DAD mais tardio, possivelmente refletindo a depuração viral ou o tipo de anticorpo usado, nucleocapsídeo ou proteína S (CARAMASCHI *et al.*, 2021). Outro estudo incluiu 22 indivíduos e mostrou presença de SARS-CoV-2 por imuno-histoquímica e por RNAscope somente em 2 (9%) dos 22

incluídos, RNA e proteínas viral foram detectados em pneumócitos e macrófagos em estágios muito precoces do DAD e não foram detectados após a primeira semana de doença (MERDJI *et al.*, 2021).

Nosso estudo teve algumas limitações. As principais delas foram a ausência de um grupo controle e o tamanho da amostra relativamente pequena, dada a urgência da situação. Os dados clínicos, laboratoriais e radiológicos foram obtidos de revisões de prontuários e, provavelmente, há um certo grau de deficiência de dados clínicos. A mediana de tempo entre o início da doença e o óbito foi de 16 dias (variação 12,5 – 20 dias), que abrange principalmente a segunda fase do DAD. Entretanto, essas limitações não limitaram os resultados e conclusão do estudo.

8. CONCLUSÃO

O Estudo Clinicopatológico da COVID-19 Fatal apresentou uma avaliação dos dados clínico-demográficos, laboratoriais, radiológicos e das principais lesões histopatológicas observadas na amostra composta por indivíduos falecidos com COVID-19 e evidenciou a presença de resposta inflamatória sistêmica associada às comorbidades do grupo da síndrome metabólica, principalmente DM e obesidade. Complementarmente, avaliou a predição do dano alveolar difuso e resposta inflamatória em múltiplos órgãos por meio da análise multivariada dos dados clínico-demográficos e laboratoriais. A presença de comorbidades e escores clínicos até o quinto dia de internação combinados com indicadores de lesão inflamatória podem ser mais sensíveis para prever a COVID-19 fatal.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (ANVISA). **Programa Nacional de Prevenção e Controle de Infecções Relacionadas à Assistência à Saúde (PNPCIRAS) 2021 a 2025**. Brasília: ANVISA, 05 de março de 2021. Disponível em : https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/servicosdesaude/publicacoes/pnpciras_2021_2025.pdf. Acesso em 09 set 2022.

ARDS DEFINITION TASK FORCE, *et al.* Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition. **JAMA.**, v.307, n. 23, p.2526-33, 2012. doi: 10.1001/jama.2012.5669.

BASTOS, P.G.; *et al.* Glasgow Coma Scale score in the evaluation of outcome in the intensive care unit: findings from the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation III study. **Crit Care Med.** v.21, n.10, 1993, p.1459-65. doi: 10.1097/00003246-199310000-00012.

BRASIL. Presidência da República. Secretaria-Geral. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Lei nº 13.123, de 20 de maio de 2015. Regulamenta o inciso II do § 1º e o § 4º do art. 225 da Constituição Federal, o Artigo 1, a alínea j do Artigo 8, a alínea c do Artigo 10, o Artigo 15 e os §§ 3º e 4º do Artigo 16 da Convenção sobre Diversidade Biológica, promulgada pelo Decreto nº 2.519, de 16 de março de 1998; dispõe sobre o acesso ao patrimônio genético, sobre a proteção e o acesso ao conhecimento tradicional associado e sobre a repartição de benefícios para conservação e uso sustentável da biodiversidade; revoga a Medida Provisória nº 2.186-16, de 23 de agosto de 2001; e dá outras providências. **D.O.U**, Brasília, 2015. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/ato2015-2018/2015/lei/l13123.htm. Acesso em: 14 jun 2022.

BEIGMOHAMMADI, M.T.; *et al.* Mortality Predictive Value of APACHE II and SOFA Scores in COVID-19 Patients in the Intensive Care Unit. **Can Respir J.**, n.5129314, 2022. doi: 10.1155/2022/5129314.

BERGMAN, J.; *et al.* Risk factors for COVID-19 diagnosis, hospitalization, and subsequent all-cause mortality in Sweden: a nationwide study. **Eur J Epidemiol.** v.36, n.3, p.287-298, 2021. doi: 10.1007/s10654-021-00732-w.

CAI, H. Sex difference and smoking predisposition in patients with COVID-19. **Lancet Respir Med.**, v.8, n.4, p.e20, 2020. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30117-X.

CARAMASCHI, S.; *et al.* Histopathological findings and clinicopathologic correlation in COVID-19: a systematic review. **Mod Pathol.**, v.34, n.9, p.1614-1633, 2021. doi: 10.1038/s41379-021-00814-w.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions**. Updated Apr. 26, 2022. Disponível

em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html> . Acesso em 24 de janeiro de 2022.

CEVIK, M.; *et al.* Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. **BMJ.**, v.371, m3862, 2020. doi: 10.1136/bmj.m3862.

CHAUHAN, N.K.; *et al.* Predictors of Clinical Outcomes in Adult COVID-19 Patients Admitted to a Tertiary Care Hospital in India: an analytical cross-sectional study. **Acta Biomed.**, v.92, n.3, p.e2021024, 2021. doi: 10.23750/abm.v92i3.10630.

CHEN, G.; *et al.* Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. **J Clin Invest.**, v.130, n.5, p.2620-2629, 2020. doi: 10.1172/JCI1137244.

CHEN, N.; *et al.* Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet.**, v.395, n.10223, p.507-513, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.

CHENG, Y.; *et al.* Dynamic changes of lymphocyte counts in adult patients with severe pandemic H1N1 influenza A. **J Infect Public Health.** v.12, n.6, p.878-883, 2019. doi: 10.1016/j.jiph.2019.05.017.

CHIDAMBARAM, V.; *et al.* Factors associated with disease severity and mortality among patients with COVID-19: A systematic review and meta-analysis. **PLoS One.**, v.15, n.11, p.e0241541, 2020. doi: 10.1371/journal.pone.0241541.

CUCINOTTA, D.; VANELLI, M. WHO Declares COVID-19 a Pandemic. **Acta Biomed.** v.91, n.1, p.157-160, 2020. doi: 10.23750/abm.v91i1.9397.

DENG, S.Q.; PENG, H.J. Characteristics of and Public Health Responses to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak in China. **J Clin Med.**, v.9, n.2, p.575, 2020. doi: 10.3390/jcm9020575.

DENSON, J.L.; *et al.* Metabolic Syndrome and Acute Respiratory Distress Syndrome in Hospitalized Patients With COVID-19. **JAMA Netw Open.**,v.4, n. 12,p.e2140568, 2021. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.40568.

DRENT, M.; *et al.* Usefulness of lactate dehydrogenase and its isoenzymes as indicators of lung damage or inflammation. **Eur Respir J.** v.9, n.8, p.1736-42., 1996. doi: 10.1183/09031936.96.09081736.

DUARTE-NETO, A.N.; *et al.* Ultrasound-guided minimally invasive autopsy as a tool for rapid post-mortem diagnosis in the 2018 Sao Paulo yellow fever epidemic: Correlation with conventional autopsy. **PLoS Negl Trop Dis.** v.13, n.7, p.e0007625, 2019. doi: 10.1371/journal.pntd.0007625.

DUARTE-NETO, A.N.; *et al.* Pulmonary and systemic involvement in COVID-19 patients assessed with ultrasound-guided minimally invasive autopsy. **Histopathology.** v.77, n. 2, p.186-197, 2020. doi: 10.1111/his.14160.

FERREIRA, F.L.; *et al.* Serial evaluation of the SOFA score to predict outcome in critically ill patients. **JAMA**, v.286, n.14, p.1754-8, 2001. doi: 10.1001/jama.286.14.1754

GATTINONI, L.; *et al.* COVID-19 pneumonia: different respiratory treatments for different phenotypes? **Intensive Care Med.**, v.46, n.6, p.1099-1102, 2020. doi: 10.1007/s00134-020-06033-2.

GHEBLAWI, M.; *et al.* Angiotensin-Converting Enzyme 2: SARS-CoV-2 Receptor and Regulator of the Renin-Angiotensin System: Celebrating the 20th Anniversary of the Discovery of ACE2. **Circ Res.**, v.126, n. 10, p.1456-1474, 2020. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317015.

GRASSELLI, G.; *et al.* Risk Factors Associated With Mortality Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy. **JAMA Intern Med.** v.180, n.10, p.1345-1355, 2020. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.3539.

GUAN, W.J.; *et al.* Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **N Engl J Med.** v.382, n.18, p.1708-1720, 2020. doi: 10.1056/NEJMoa2002032.

GUILLOIN, A.; HIEMSTRA, P.; SI-TAHAR, M. Pulmonary immune responses against SARS-CoV-2 infection: harmful or not? **Intensive Care Med.**, v.46, n. 10, p.1897-1900, 2020. doi: 10.1007/s00134-020-06170-8.

HAMMING, I.; *et al.* Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. **J Pathol.**, v.203, n.2, p.631-7, 2004. doi: 10.1002/path.1570.

HOFFMANN, M.; *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. doi: 10.1016/j.cell.2020.02.052.

HU, B.; *et al.* Characteristics of SARS-CoV-2 and COVID-19. **Nat Rev Microbiol.**, v.19, n.3, p.141-154, 2021. doi: 10.1038/s41579-020-00459-7.

JACKSON, S.P.; DARBOUSSET, R.; SCHOENWAEELDER, S.M. Thromboinflammation: challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. **Blood.**, v.133, n.9, p.906-918, 2019. doi: 10.1182/blood-2018-11-882993.

JAIN, V.; YUAN, J.M. Predictive symptoms and comorbidities for severe COVID-19 and intensive care unit admission: a systematic review and meta-analysis. **Int J Public Health.**, v.65, n.5, p.533-546, 2020. doi: 10.1007/s00038-020-01390-7.

KNAUS, W.A.; *et al.* APACHE II: a severity of disease classification system. **Crit Care Med.**, v.13, n.10, p.818-29, 1985.

KUBIN, C.J.; *et al.* Characterization of Bacterial and Fungal Infections in Hospitalized Patients With Coronavirus Disease 2019 and Factors Associated With Health Care-

Associated Infections. **Open Forum Infect Dis.**, v.8, n. 6, p.ofab201, 2021. doi: 10.1093/ofid/ofab201.

LALUEZA, A.; *et al.* Severe lymphopenia in hospitalized patients with influenza virus infection as a marker of a poor outcome. **Infect Dis (Lond)**. v.51, n.7, p.543-546, 2019. doi: 10.1080/23744235.2019.1598572.

LANSBURY, L.; *et al.* Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **J Infect.**, v.81, n. 2, p.266-275, 2020. doi: 10.1016/j.jinf.2020.05.046.

LI, L.; *et al.* Biosafety level 3 laboratory for autopsies of patients with severe acute respiratory syndrome: principles, practices, and prospects. **Clin Infect Dis**. v.41, n.6, p.815-21, 2005. doi: 10.1086/432720.

MCGRATH, B.A.; *et al.* Tracheostomy in the COVID-19 era: global and multidisciplinary guidance. **Lancet Respir Med**. v.8, n.7, p.717-725, 2020. doi: 10.1016/S2213-2600(20)30230-7.

MEHTA, P.; *et al.* COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. **Lancet**. v.395, n.10229, p.1033-1034, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30628-0.

MERDJI, H.; *et al.* Histopathological features in fatal COVID-19 acute respiratory distress syndrome. **Med Intensiva (Engl Ed)**. v.45, n.5, p.261-270, 2021. English, Spanish. doi: 10.1016/j.medin.2021.02.007.

MORENO, R.; *et al.* The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. **Intensive Care Med.**, v.25, n. 7, p.686-96, 1999. doi: 10.1007/s001340050931.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH). **Coronavirus disease 2019 (COVID-19) treatment guidelines**. Bethesda: National Institutes of Health, 2022. Disponível em: <https://www.covid19treatmentguidelines.nih.gov/>. Acesso 14 jun 2022.

OBERFELD, B.; *et al.* SnapShot: COVID-19. **Cell**. v.181, n. 4, p.954-954.e1., 2020. doi: 10.1016/j.cell.2020.04.013.

ÖNAL, U.; *et al.* Prognostic factors for COVID-19 patients. **J Infect Dev Ctries.**, v.16, n.3, p.409-417, 2022. doi: 10.3855/jidc.15845.

PATEL, P.; *et al.* Clinical Characteristics of Multisystem Inflammatory Syndrome in Adults: A Systematic Review. **JAMA Netw Open.**, v.4, n.9, p.e2126456, 2021. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.26456.

PEIRIS, S.; *et al.* Pathological findings in organs and tissues of patients with COVID-19: A systematic review. **PLoS One**, v.16, n. 4, p.e0250708, 2021. doi: 10.1371/journal.pone.0250708.

RAWSON, T.M.; *et al.* Bacterial and Fungal Coinfection in Individuals With Coronavirus: A Rapid Review To Support COVID-19 Antimicrobial Prescribing. **Clin Infect Dis.**, v.71, n.9, p.2459-2468, 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa530.

RICHARDSON, S.; *et al.* Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. **JAMA.**, v.323, n.20, p.2052-2059, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.6775.

SALTIEL, A.R.; OLEFSKY, J.M. Inflammatory mechanisms linking obesity and metabolic disease. **J Clin Invest.** v.127, n.1, p.1-4., 2017. doi: 10.1172/JCI92035.

SESSLER, C.N.; *et al.* The Richmond Agitation-Sedation Scale: validity and reliability in adult intensive care unit patients. **Am J Respir Crit Care Med.**, v.166, n.10, p.1338-44, 2002. doi: 10.1164/rccm.2107138.

SETIATI, S.; *et al.* Risk factors and laboratory test results associated with severe illness and mortality in COVID-19 patients: A systematic review. **Acta Med Indones.** v.52, n.3, p.227-245, 2020.

SHI, H.; *et al.* Radiological findings from 81 patients with COVID-19 pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. **Lancet Infect Dis.** v.20, n.4, p.425-434, 2020. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30086-4.

SINGER, M.; *et al.* The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). **JAMA.**, v.315, n.8, p.801-10, 2016. doi: 10.1001/jama.2016.0287.

STOKES, E.K.; *et al.* Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020. **MMWR Morb Mortal Wkly Rep**, v.69, n. 24, p.759–765, 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.15585/mmwr.mm6924e2>.

SUNGNAK, W.; *et al.* SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. **Nat Med.**, v.26, n. 5, p.681-687, 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0868-6.

TAKAHASHI, T.; *et al.* Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. **Nature.**, v.588, n.7837, p.315-320, 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2700-3.

TAY, M.Z.; *et al.* The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nat Rev Immunol.** v.20, n.6, p.:363-374, 2020. doi: 10.1038/s41577-020-0311-8.

TEUWEN, L.A., *et al.* COVID-19: the vasculature unleashed. **Nat Rev Immunol** v.20, p.389–391, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0343-0>.

THOMPSON, B.T.; CHAMBERS, R.C.; LIU, K.D. Acute Respiratory Distress Syndrome. **N Engl J Med.**, v.377, n.6, p.562-572, 2017. doi: 10.1056/NEJMra1608077.

VASILEVSKIS, E.E.; *et al.* Validity of a Modified Sequential Organ Failure Assessment Score Using the Richmond Agitation-Sedation Scale. **Crit Care Med.**, v.44, n.1, p.138-46, 2016. doi: 10.1097/CCM.0000000000001375.

WHITE, P.L.; *et al.* A National Strategy to Diagnose Coronavirus Disease 2019-Associated Invasive Fungal Disease in the Intensive Care Unit. **Clin Infect Dis.**, v.73, n.7, p.e1634-e1644, 2021. doi: 10.1093/cid/ciaa1298.

WILLIAMS, J.M.; *et al.* Systemic Inflammatory Response Syndrome, Quick Sequential Organ Function Assessment, and Organ Dysfunction: Insights From a Prospective Database of ED Patients With Infection. **Chest.** v.151, n. 3, p.586-596, 2017. doi: 10.1016/j.chest.2016.10.057.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard:** Overview. Geneva: WHO, 2022. Disponível em: <https://covid19.who.int/>. Acesso em 13 jun 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION.(WHO).ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Tracking SARS-CoV-2 variants.** Geneva: WHO, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/> . Acesso em 15 de fevereiro de 2022.

WU, C.; *et al.* Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA Intern Med.**, v.180, n. 7, p.934-943, 2020. doi: 10.1001/jamainternmed.2020.0994.

WU, Z.; MCGOOGAN, J.M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA.**, v.323, n.13, p.1239-1242, 2020. doi: 10.1001/jama.2020.2648.

YADAV, J.; *et al.* Clinical, Virological, and Pathological Profile of Patients Who Died of COVID-19: An Autopsy-Based Study From India. **Cureus.** v.14, n.3, p.:e23538, 2022. doi: 10.7759/cureus.23538.

ZENG, H, L.; *et al.* Longitudinal Profile of Laboratory Parameters and Their Application in the Prediction for Fatal Outcome Among Patients Infected With SARS-CoV-2: A Retrospective Cohort Study. **Clin Infect Dis**, v.72, n.4, p.626-633, 2021. doi: 10.1093/cid/ciaa574.

ZHENG, Z.; *et al.* Risk factors of critical & mortal COVID-19 cases: A systematic literature review and meta-analysis. **J Infect.** v.81, n.2, p.e16-e25, 2020. doi: 10.1016/j.jinf.2020.04.021.

ZHOU, F.; *et al.* Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **Lancet.**, v.395, n. 10229, p.1054-1062, 2020. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo anatomopatológico de fatores prognósticos da COVID-19 fatal por meio da autópsia minimamente invasiva.

Pesquisador: MARCELO PASCOAL

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 31585420.6.0000.5149

Instituição Proponente: Faculdade de Medicina da UFMG

Patrocinador Principal: CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO-CNPQ

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.017.657

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo primário, unicêntrico e observacional, do tipo transversal, a ser realizado no Centro de Tratamento Intensivo do Hospital Eduardo de Menezes (HEM) – FHEMIG, Serviço de Imuno-histoquímica do Instituto René Rachou – FIOCRUZ Minas e Departamento de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da UFMG, com período previsto de inclusão de participantes de junho a agosto/2020.

Segundo o pesquisador, por se tratar de estudo observacional e descritivo, não apresenta hipótese.

Critério de Inclusão: Serão incluídos no projeto, após consentimento livre e esclarecido emitido pelos familiares, todos os participantes maiores de 18 anos que foram notificadas aos sistemas de vigilância epidemiológica da SMS/PBH e SES/MG por suspeita de infecção por SARS-CoV-2 ou diagnóstico confirmado de COVID-19.

Critério de Exclusão: Serão excluídas do projeto os participantes que se enquadrarem nos seguintes critérios: - Gestantes; - Pacientes soropositivos para HIV/AIDS; - Pacientes portador de doença crônica terminal.

Segundo o pesquisador, haverá retenção de amostras para armazenamento em banco, com a justificativa: "Juntamente com a execução desse projeto será constituído Biorrepositório na infraestrutura já disponível com as amostras biológicas coletadas e vinculadas a este estudo. O

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II

CEP: 31.270-901

UF: MG

Município: BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.017.657

pesquisador Marcelo Pascoal se responsabilizará pelo Biorrepositório no Serviço de Imuno-histoquímica do Instituto René Rachou - FIOCRUZ Minas e pelo atendimento às normas vigentes. A cada projeto em que a proposição do uso das amostras ocorrer, deverão ser submetidas para a aprovação dos Comitês de Ética em Pesquisa (CEP) nas instituições onde o projeto será desenvolvido. Quando e se for o caso, deverá ser submetido à Comissão Nacional de Ética (CONEP). O TCLE referente à coleta, depósito, armazenamento, utilização e descarte de material biológico humano é formalizado por meio de TCLE específico, conforme preconizado nas resoluções do Conselho Nacional de Saúde (CNS). O biorrepositório poderá ser utilizado para novas pesquisas envolvendo projetos relacionados à virologia, imunologia, clínica e patologia dos coronavírus. Esses projetos de pesquisas estarão sempre sob a aprovação do CEP ou CONEP, quando for o caso. O consentimento do participante da pesquisa deixa clara a ciência do participante da pesquisa que o material autorizado na coleta, será depositado e armazenado e que poderá ser utilizado como material biológico humano. Com isso a cada nova pesquisa não haverá necessidade de assinatura de um novo termo de consentimento."

No TCLE informa: "A pesquisa tem como objetivo estudar as alterações provocadas pelo coronavírus nos principais órgãos do corpo, como pulmões, coração, fígado e rins, para comprovar a importância de alguns exames laboratoriais na avaliação da gravidade da doença. Para tanto, planejamos realizar o procedimento chamado autópsia minimamente invasiva, que consiste em realizar somente biópsias por agulha, através da pele ou percutâneas, dos pulmões, coração, fígado e rins e, se indicado pelo médico assistente, do cérebro, baço, medula óssea e pele... Caso concorde com essa pesquisa, você autorizará também a consulta e utilização de dados do prontuário médico do seu familiar e o armazenamento ou guarda das biópsias na FIOCRUZ Minas. Esse material biológico coletado (biópsia) será utilizado unicamente para esta pesquisa. Se houver o interesse de utilização deste material para pesquisas futuras, você será novamente contatado para autorizar a utilização do material armazenado sob responsabilidade dos pesquisadores.

Objetivo da Pesquisa:

Segundo o proponente descreve em PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547516.pdf:

Objetivo Primário: Desenvolver estudo anatomopatológico dos fatores prognósticos da COVID-19 fatal por meio da autópsia minimamente invasiva.

Objetivo Secundário: 1- Caracterizar as lesões patológicas do SARS-CoV-2 em amostras de tecido por exame histopatológico 2- Associar as lesões patológicas aos fatores prognósticos clínicos, laboratoriais e radiológicos da COVID-19 3- Detectar e quantificar o SARS-CoV-2 em amostras de tecido por imunohistoquímica e reação em cadeia da polimerase em tempo real 4- Relacionar a

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.017.657

presença e a carga viral do SARS-CoV-2 nos tecidos com a evolução clínica da COVID-19- Avaliar o perfil de biomarcadores da imunidade inata, inflamação NLRP3 e apoptose por imuno-histoquímica e reação em cadeia da polimerase em tempo real 6- Correlacionar o perfil de biomarcadores com as lesões patológicas e carga viral do SARS-CoV-27- Estabelecer modelos matemáticos prognósticos da COVID-19 fatal.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

São descritos no TCLE, 2TCLEAPMCOVID19.pdf: "As biópsias são realizadas somente em alguns locais, sem necessidade de cortes ou abertura e sem qualquer risco de desconfiguração ou deformação do corpo. Por isso, é chamada de autópsia minimamente invasiva. Riscos potenciais do projeto, como perda do sigilo e da confidencialidade das informações, serão pequenos porque serão utilizadas medidas de codificação das

amostras e utilização de senhas. Somente os responsáveis pelo estudo terão acesso à identificação das participantes. Com este estudo, espera-se contribuir muito para o entendimento das consequências da COVID-19 e com a comprovação de testes que indiquem a chance de gravidade da doença... Importante lhe informar que você tem total liberdade para não permitir a participação do seu familiar na pesquisa e para retirar esse consentimento para guarda e utilização do material biológico a qualquer momento. Todos os direitos e garantias serão respeitados, como tempo adequado para a reflexão e decisão de permitir a participação ou não da pesquisa; liberdade para recusar a participação ou para retirar o consentimento, em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma; manutenção do sigilo e da privacidade; acesso aos resultados dos exames; esclarecimentos adicionais da pesquisa; ressarcimento das despesas para a realização da pesquisa; e indenização diante de eventuais danos decorrentes da participação do seu familiar na pesquisa."

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Protocolo que envolve COVID-19, com tramitação especial na CONEP.

Centros Coparticipantes: Instituição Instituto René Rachou/FIOCRUZ Minas e FUNDAÇÃO HOSPITALAR DO ESTADO DE MINAS GERAIS.

Apoio financeiro: CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTIFICO E TECNOLÓGICO-CNPQ

No parecer do Departamento de Anatomia Patológica FM/UFMG, traz a avaliação da viabilidade financeira do projeto, que informa: "O projeto apresenta infraestrutura e insumos disponíveis para as análises histoquímicas. Entretanto, não dispõe de recursos financeiros para o desenvolvimento

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.017.657

dos experimentos de imuno-histoquímica e reação em cadeia da polimerase (PCR). Para obtenção destes recursos financeiros pendentes, a proposta do projeto foi recentemente submetida ao Edital Chamada MCTIC/CNPq/FNDCT/MS/SCTIE/Decit N° 07/2020 –Pesquisas para enfrentamento da COVID-19, suas consequências e outras síndromes respiratórias agudas graves e aguarda julgamento."

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

0FolhaDeRostoAPMCOVID19assinada.pdf: Folha de rosto assinada pela instituição proponente.

ParecerConsubstanciadoAPMCOVID19.pdf: Parecer substanciado pelo Departamento de Anatomia Patológica FM/UFMG, de 08 de maio de 2020. Apresenta a avaliação da capacitação técnica do pesquisador para realizar a pesquisa proposta.

7AnuenciaAPMFUMFG.pdf: Parecer substanciado sucinto aprovado Ad referendum pelo Departamento de Anatomia Patológica FM/UFMG, em 29/04/2020.

6TermoBiorrepositorioFIOCRUZ.pdf: Termo de Constituição de Biorrepositório com participação do Instituto René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (IRR/FIOCRUZ Minas) informa: "O Biorrepositório, constituído por amostras de tecido, atenderá às normas do Regimento Institucional de Biorrepositório da instituição depositária e será sediado e armazenado no Laboratório do Grupo de Imunologia de Doenças Virais".

5AnuenciaSESMG.pdf: declaração de ciência e autorização do Subsecretário de Vigilância em Saúde, da Secretaria de Estado de Saúde - SES/MG, em 17 de abril de 2020.

4AnuenciaFIOCRUZMinas.pdf: TERMO DE AUTORIZAÇÃO E EXISTÊNCIA DE INFRAESTRUTURA pela Diretora do Centro de pesquisas Instituto René Rachou Fiocruz/MS, em 17 de abril de 2020.

3AnuenciaHEMFHEMIG.pdf: TERMO DE AUTORIZAÇÃO E EXISTÊNCIA DE INFRAESTRUTURA pela Diretora Hospitalar do Hospital Eduardo de Menezes, em 24 de abril de 2020.

2TCLEAPMCOVID19.pdf: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

1ProtocoloAPMCOVID19.pdf: Descreve a metodologia para o procedimento minimamente invasivo

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.017.657

de amostragem post-mortem de tecidos e líquidos corporais, com o auxílio de técnicas de imagem. Apresenta o cronograma até 31/03/2021. Apresenta o orçamento detalhado do valor total de R\$ 248.357,55 previsto. No protocolo da pesquisa informa: "Tamanho da amostra no Brasil Considerando estudos prévios internacionais e nacionais para validação do procedimento minimamente invasivo, bem como definições dos índices epidemiológicos no contexto atual da pandemia COVID-19, foi estimada amostra de conveniência de 50 participantes."

Recomendações:

Não há parecer consubstanciado aprovado pela Câmara Departamental, apenas pelo Prof. Marcelo Antonio Pascoal Xavier do Departamento de Anatomia Patológica FM/UFMG, que não expressa ao final do parecer, a conclusão de aprovação do projeto. Inserir o parecer aprovado pela Câmara Departamental com a conclusão do parecerista.

No TCLE, não é necessário o campo de rubricas na última página, onde estão as assinaturas do pesquisador e do responsável legal.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

S.M.J., aprova-se o projeto.

Considerações Finais a critério do CEP:

Tendo em vista a legislação vigente (Resolução CNS 466/12), o CEP-UFMG recomenda aos Pesquisadores: comunicar toda e qualquer alteração do projeto e do termo de consentimento via emenda na Plataforma Brasil, informar imediatamente qualquer evento adverso ocorrido durante o desenvolvimento da pesquisa (via documental encaminhada em papel), apresentar na forma de notificação relatórios parciais do andamento do mesmo a cada 06 (seis) meses e ao término da pesquisa encaminhar a este Comitê um sumário dos resultados do projeto (relatório final).

O presente projeto, seguiu nesta data para análise da CONEP e só tem o seu início autorizado após a aprovação pela mesma.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1547516.pdf	08/05/2020 15:24:46		Aceito
Outros	ParecerConsubstanciadoAPMCOVID19.pdf	08/05/2020 15:24:26	MARCELO PASCOAL	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	1ProtocoloAPMCOVID19.pdf	05/05/2020 17:27:28	MARCELO PASCOAL	Aceito

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos,6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
MINAS GERAIS



Continuação do Parecer: 4.017.657

Outros	7AnuenciaAPMFUFMG.pdf	05/05/2020 17:26:19	MARCELO PASCOAL	Aceito
Folha de Rosto	0FolhaDeRostoAPMCOVID19assinada.pdf	05/05/2020 17:25:35	MARCELO PASCOAL	Aceito
Declaração de Manuseio Material Biológico / Biorepositório / Biobanco	6TermoBiorrepositorioFIOCRUZ.pdf	29/04/2020 08:00:28	MARCELO PASCOAL	Aceito
Outros	5AnuenciaSESMG.pdf	29/04/2020 08:00:13	MARCELO PASCOAL	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	4AnuenciaFIOCRUZMinas.pdf	29/04/2020 07:59:16	MARCELO PASCOAL	Aceito
Declaração de concordância	3AnuenciaHEMFHEMIG.pdf	29/04/2020 07:58:32	MARCELO PASCOAL	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	2TCLEAPMCOVID19.pdf	29/04/2020 07:58:12	MARCELO PASCOAL	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Sim

BELO HORIZONTE, 09 de Maio de 2020

Assinado por:
Críssia Carem Paiva Fontainha
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 2º Ad Sl 2005

Bairro: Unidade Administrativa II **CEP:** 31.270-901

UF: MG **Município:** BELO HORIZONTE

Telefone: (31)3409-4592

E-mail: coep@prpq.ufmg.br