

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA

PAMELLA CRISTINA OLIVEIRA FRANÇÓIA

ANÁLISE DE PARÂMETROS HEMOCITOMÉTRICOS COMO PREDITORES DE
MORTALIDADE EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19

PONTA GROSSA

2022

PAMELLA CRISTINA OLIVEIRA FRANÇÓIA

ANÁLISE DE PARÂMETROS HEMOCITOMÉTRICOS COMO PREDITORES DE
MORTALIDADE EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, na Universidade Estadual de Ponta Grossa, no Programa de Ciências Biomédicas, área de concentração: Fisiologia e Fisiopatologia.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Cristyane Kalva

PONTA GROSSA

2022

F825 Françaia, Pamella Cristina Oliveira
Análise de parâmetros hemocitométricos como preditores de mortalidade em pacientes hospitalizados com COVID-19 / Pamella Cristina Oliveira Françaia. Ponta Grossa, 2022.
59 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Biomédicas - Área de Concentração: Fisiologia e Fisiopatologia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Cristyane Kalva.

1. Doença coronavírus 2019. 2. Infecção pelo sars-cov-2. 3. Testes hematológicos. 4. Biomarcadores. 5. Mortalidade. I. Kalva, Danielle Cristyane. II. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fisiologia e Fisiopatologia. III.T.

CDD: 616

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NÍVEL DE MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FISIOLOGIA E FISIOPATOLOGIA 03/2022 DA MESTRANDA Pamella Cristina Oliveira França REALIZADA NO DIA 01 DE JULHO DE 2022, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.


No primeiro dia do mês de julho do ano de dois mil e vinte dois, às 9h00min, na sala 58, Bloco M, da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG) em sessão pública sob a presidência da Professora Dra. Danielle Cristyane Kalva Borato reuniu-se a Banca Examinadora de defesa da Dissertação de Mestrado em Ciências Biomédicas da mestranda Pamella Cristina Oliveira França na linha de pesquisa Fisiopatologia do metabolismo e do sistema imune, constituída pelos demais Doutores (membros titulares): Profa. Thais Latansio de Oliveira UNICESUMAR/PR e Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso UEPG/PR. Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem a defesa da dissertação de Mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título da dissertação avaliada foi: "ANÁLISE DOS PARÂMETROS HEMOCITOMÉTRICOS COMO PREDITORES DE MORTALIDADE EM PACIENTES HOSPITALIZADOS COM COVID-19". Encerrada a defesa, e após reunião, a banca comunicou o resultado final da avaliação da dissertação como **APROVADA**. Considerado requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Biomédicas, a aluna deverá entregar uma cópia da versão final, no prazo estipulado no item 8 da IN 01/2015, referente a defesa de dissertação com as modificações sugeridas pelos membros da banca examinadora. Para a obtenção do título de mestre, o aluno terá até 6 meses, após a data da defesa da sua dissertação, para apresentar ao Colegiado a carta de submissão do seu artigo em revista indexada no estrato mínimo B3 dentre os periódicos indicados pela área de Ciências Biológicas II vigente. Nada mais havendo a ser tratado, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora.

Alteração de título:

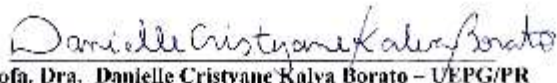
Sugestão:



Profa. Dra. Thais Latansio de Oliveira – UNICESUMAR/PR



Prof. Dr. José Carlos Rebuglio Velloso – UEPG/PR



Profa. Dra. Danielle Cristyane Kalva Borato – UEPG/PR

Ponta Grossa, 01 de julho de 2022.

Dedico à memória de meu querido pai, Dimas Antônio França, que foi mais
uma vítima da COVID-19.

Homem sábio, que dizia que o estudo era o único legado que poderia
deixar para mim. E hoje, concretizo mais uma conquista.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, pela saúde e força por ter chegado até aqui.

À minha orientadora, Profa. Dra. Danielle pelo seu apoio, amizade, incentivo e contribuição de seus conhecimentos na orientação desta dissertação.

À minha família, amigos e companheiro que sempre estiveram ao meu lado me incentivando, apoiando e torcendo pelas minhas conquistas.

À toda equipe do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais, pela amizade e colaboração de informações que auxiliaram na concretização deste estudo.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a conclusão desta pesquisa.

RESUMO

A gravidade dos casos de COVID-19 está associada a resposta inflamatória exacerbada, conhecida como tempestade de citocinas. Uma resposta imune controlada e eficaz é crucial para eliminar os efeitos prejudiciais da infecção. Diversos parâmetros hematológicos refletem o estado do sistema imunológico, sendo possível acompanhar essa resposta. Porém, estudos sobre parâmetros hemocitométricos não utilizados na prática clínica são escassos. Portanto, o objetivo deste estudo foi avaliar a utilização de parâmetros hemocitométricos como preditores de mortalidade em pacientes hospitalizados com COVID-19, de acordo com o desfecho final (alta hospitalar ou óbito) em 30 dias. Foi realizado um estudo observacional, com dados dos pacientes com COVID-19 obtidos do laboratório do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), Ponta Grossa – Paraná, durante o período de julho a agosto de 2021. Foram adquiridos dados demográficos e clínicos de 230 pacientes com diagnóstico de COVID-19. Após os critérios de seleção foram incluídos no estudo 140 pacientes. Os parâmetros do hemograma, incluindo os hemocitométricos: NE-SSC (reatividade dos neutrófilos), NE-SFL (atividade metabólica dos neutrófilos), LY-SSC (irregularidade do núcleo linfocitário, granulação citoplasmática e/ou vacuolização) e LY-SFL (atividade metabólica dos linfócitos e/ou permeabilidade da membrana celular), assim como os marcadores inflamatórios: PCR, RNL, RPL e RLM foram obtidos na admissão hospitalar e em até 24 horas antecedendo o desfecho final (alta ou óbito). Os pacientes foram divididos em dois grupos: sobreviventes (n=102) e não sobreviventes (n=38). Idade avançada, comorbidades, comprometimento pulmonar >50% foram considerados fatores de risco para COVID-19. Os parâmetros NE-SSC, RDW-CV, RNL e PCR demonstraram estar associados ao prognóstico de mortalidade e podem ser utilizados para avaliar a sobrevivência em 30 dias, com ponto de corte estimado em 153 Ch, 13,2%, 14 e 13,9 mg/dL, respectivamente. Porém, somente idade foi considerada fator de risco independente para mortalidade. Na avaliação em 24 horas antecedendo ao desfecho final (alta ou óbito), as alterações dos parâmetros foram mais expressivas, sendo os piores resultados encontrados no grupo de não sobreviventes. Esses resultados demonstraram que os parâmetros NE-SSC, RDW-CV e RNL permaneceram alterados até o desfecho final. Portanto, os resultados do presente estudo podem ser explorados em estudos futuros para o desenvolvimento de algoritmos de regras para predição clínica em pacientes com COVID-19.

Palavras-chave: Doença por Coronavírus 2019; Infecção pelo SARS-CoV-2; Testes hematológicos; Biomarcadores; Mortalidade.

ABSTRACT

The severity of COVID-19 cases is associated with an exacerbated inflammatory response, known as a cytokine storm. A controlled and effective immune response is crucial to eliminating the harmful effects of infection. Several hematological parameters reflect the immune system's state, making monitoring this response possible. However, studies about hemocytometric parameters not used in clinical practice are scarce. Therefore, this study aimed to evaluate the use of hemocytometric parameters as predictors of mortality in hospitalized patients with COVID-19, according to the final outcome (hospital discharge or death) within 30 days. An observational study was carried out, with data from patients with COVID-19 obtained from the laboratory of the Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), Ponta Grossa - Paraná, during the period from July to August 2021. Demographic and clinical data were obtained from 230 patients diagnosed with COVID-19. After the selection criteria, 140 patients were included in the study. Blood count parameters, including hemocytometrics: NE-SSC (neutrophil reactivity), NE-SFL (neutrophil metabolic activity), LY-SSC (lymphocyte nucleus irregularity, cytoplasmic granulation, and/or vacuolization) and LY-SFL (lymphocyte metabolism and/or cell membrane permeability), as well as inflammatory markers: CRP, NLR, PLR, LMP were obtained at hospital admission and within 24 hours preceding to the final outcome (discharge or death). Patients were divided into two groups: survivors (n=102) and non-survivors (n=38). Advanced age, comorbidities, and lung involvement >50% were considered risk factors for COVID-19. The parameters NE-SSC, RDW-CV, NLR, and CRP have been shown to be associated with mortality prognosis. They can be used to assess 30 days survival, with an estimated cut-off point of 153 Ch, 13.2%, 14 and 13, 9 mg/dL, respectively. However, only age was considered an independent risk factor for mortality. In the 24-hour assessment preceding to the final outcome (discharge or death), the changes in the parameters were more expressive, with the worst results being found in the non-survivors group. These results showed that the NE-SSC, RDW-CV, and NLR parameters remained changed until the final outcome. Therefore, the results of the present study can be explored in future studies to develop rule algorithms for clinical prediction in patients with COVID-19.

Keywords: Coronavirus Disease 2019; SARS-CoV-2 infection; Hematological tests; Biomarkers; Mortality.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2	14
Figura 2- Ciclo de replicação do coronavírus.....	16
Figura 3- Curvas ROC para RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR na admissão dos pacientes com COVID-19	36
Figura 4- Curvas de sobrevivência em 30 dias para os pacientes com COVID-19.....	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Variantes de preocupação atualmente designadas (VOC)	15
Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes com COVID-19	30
Tabela 3 - Parâmetros laboratoriais na admissão dos pacientes com COVID-19.....	32
Tabela 4- Parâmetros laboratoriais em até 24 horas antecedendo o desfecho final dos pacientes com COVID-19	33
Tabela 5- Análise de regressão logística univariada dos fatores de risco para prever o prognóstico de pacientes com COVID-19.....	34
Tabela 6- Resultados da curva ROC	35
Tabela 7- Análise univariada e multivariada de Cox para prever a mortalidade em 30 dias	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANG II	Angiotensina II
APC	Antigen Presenting Cells
AUC	Area Under Curve
AVC	Acidente Vascular Cerebral
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
Ch	Channels
CHCM	Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média
CID	Coagulação Intravascular Disseminada
COVID-19	Coronavirus Disease 2019
E	Envelope
ECA 2	Enzima Conversora de Angiotensina 2
EPO	Eritropoetina
ESPII	Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional
FSC	Forward Scatter
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HE	Hemaglutinina Esterase
HFLs	High Fluorescent Lymphocytes
HURCG	Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais
IFN- γ	Interferon Gama
IFN-1	Interferon 1
IL	Interleucina
IMC	Índice de Massa Corporal
LY-SFL	Lymphocyte metabolic activity and/or permeability of the cell membrane
LY-SSC vacuolization	Lymphocyte nucleus irregularity, cytoplasmic granulation and/or vacuolization
M	Membrana
MCP-1	Monocyte Chemotactic Protein-1
MHC	Major Histocompatibility Complex
MIP-1	Macrophage Inflammatory Protein-1
N	Nucleocapsídeo
NE-SFL	Reactivity of Neutrophils/Metabolic Activity

NE-SSC	Reactivity of Neutrophils/Cytoplasmic Granulation
N-TD	N-Terminal Domain
OMS	Organização Mundial da Saúde
ORFs	Open Reading Frames
PAMPs	Padrões Moleculares Associados a Patógenos
PCR	Proteína C Reativa
RBD	Receptor Binding Domain
RDW	Red Cell Distribution Width
RML	Relação Linfócitos/Monócitos
RNA	Ribonucleic Acid
RNL	Relação de Neutrófilos/Linfócitos
ROC	Receiver Operating Characteristic
RPL	Relação de Plaquetas/Linfócitos
RT-PCR	Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction
S	Spike
SARS	Severe Acute Respiratory Syndrome
SARS-CoV-2	Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SDRA	Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo
SFL	Side Fluorescence
SSC	Side Scatter
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β	Growth Fator Beta
TLR-7	Receptores Toll-like-7
TMPRSS2	Transmembrane Serine Protease 2
TNF- α	Tumor Necrosis Factor Alpha
VCM	Volume Corpuscular Médio
VEGF	Vascular Endothelial Growth Fator
VOC	Variants Of Concern
VOI	Varianst Of Interest
VS	Versus

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	REVISÃO DA LITERATURA	13
2.1	Virologia do SARS-CoV-2.....	13
2.2	Transmissão e Fisiopatologia da COVID-19	15
2.3	Resposta imune contra o SARS-CoV-2	17
2.4	Características clínicas da COVID-19.....	18
2.5	Diagnóstico e tratamento da COVID-19	19
2.6	Alterações do hemograma na COVID-19	19
2.7	Parâmetros hemocitométricos adicionais na COVID-19	21
2.6	Marcadores de inflamação na COVID-19	23
3	OBJETIVOS	25
3.1	Objetivo geral.....	25
3.2	Objetivos específicos	25
4	METODOLOGIA.....	26
4.1	Delineamento do estudo.....	26
4.2	Análise estatística.....	27
5	RESULTADOS	29
6	DISCUSSÃO	40
7	CONCLUSÃO.....	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A recente pandemia causada pelo coronavírus, SARS-CoV-2 (do inglês, *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*), tem gerado grande impacto sobre a saúde e economia global (GAUTAM; HENS, 2020). Os primeiros relatos da COVID-19 (do inglês, *coronavirus disease 2019*) ocorreram na cidade de Wuhan, localizada na China, em dezembro de 2019 e no dia 11 de março de 2020, a COVID-19 foi declarada como pandemia (WHO, 2022a; ZHU *et al.*, 2020). Os dados são alarmantes: até o dia 06 de janeiro de 2022 foram contabilizados quase 300 milhões de casos confirmados e mais de 5 milhões de mortes no mundo, sendo 22,3 milhões e 620 mil constatados no Brasil (WHO, 2022b).

De forma global, a COVID-19 devastou famílias e ainda causa graves consequências no dia a dia da sociedade; a pandemia deixará marcas físicas, sociais e emocionais na população (DUBEY *et al.*, 2020). As medidas de contenção do vírus, como distanciamento social, higienização adequada, proteção de vias aéreas e vacinação são aliados no enfrentamento da doença (CHU *et al.*, 2020; COREY *et al.*, 2020).

Casos graves da doença resultam em hospitalizações e para avaliar a evolução da condição clínica dos pacientes ferramentas diagnósticas são úteis e auxiliam na tomada de decisão (LIPPI; PLEBANI, 2020). A literatura traz uma série de dados de perfis laboratoriais de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, incluindo marcadores hematológicos, imunológicos e bioquímicos (GAVIN *et al.*, 2021). Dados esses que são indispensáveis para o acompanhamento do paciente e tomada de decisões clínicas.

A gravidade dos casos de COVID-19 está associada a resposta inflamatória exacerbada (MERAD; SUBRAMANIAN; WANG, 2021). Uma resposta imune controlada e eficaz é um elemento crucial para eliminar os efeitos prejudiciais da infecção e por meio dos parâmetros hematológicos, que refletem o estado do sistema imunológico é possível acompanhar essa resposta (DENNISON *et al.*, 2021).

A infecção por SARS-CoV-2 é acompanhada por alterações hemocitométricas ao longo do tempo e a identificação precoce de pacientes com evolução clínica crítica pode reduzir a mortalidade por meio de intervenções oportunas (LINSSEN *et al.*, 2020; SUN *et al.*, 2020).

Contudo, estudos sobre parâmetros hemocitométricos não utilizados na prática clínica, que são objetos do presente estudo, são escassos. Dessa forma, faz-se necessário a compreensão e elucidação da influência desses marcadores na evolução clínica e desfecho

final dos pacientes, o que poderá contribuir para a redução da morbimortalidade causada pela COVID-19, assim como a inserção de novos parâmetros na rotina laboratorial.

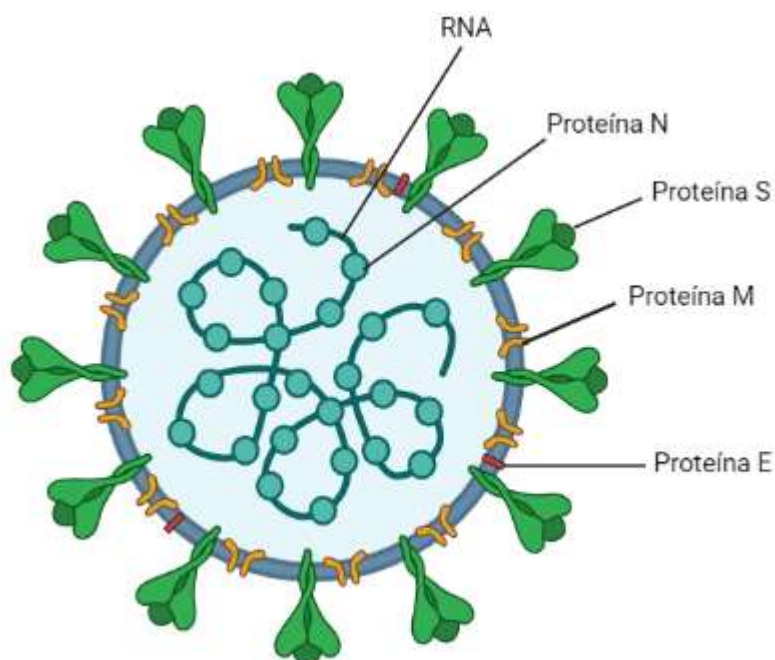
2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Virologia do SARS-CoV-2

O vírus SARS-CoV-2 pertence à família dos beta-coronavírus, possui RNA de fita simples sentido positivo e é responsável por causar síndrome respiratória aguda grave (SARS) em humanos (HUI *et al.*, 2020).

Estruturalmente, o vírus SARS-CoV-2 possui quatro proteínas principais: *spike* (S), envelope (E), nucleocapsídeo (N) e membrana (M), além de proteínas acessórias como a hemaglutinina esterase (HE) (Figura 1) (MOUSAVIZADEH; GHASEMI, 2021). O mecanismo proposto pelo qual o vírus infecta células humanas ocorre por meio da interação da proteína S com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2), que atua como um receptor de entrada do vírus SARS-CoV-2 (HOFFMANN, M. *et al.*, 2020). A proteína S é responsável por promover a fixação à célula-alvo do hospedeiro e a fusão da membrana viral e celular, onde ocorre a transferência de material genético viral e subsequente replicação (TORTORICI; VEESLER, 2019). Para que ocorra esse processo é necessário a presença de uma protease, a TMPRSS2 (do inglês, *Transmembrane Serine Protease 2*), localizada na superfície celular (HOFFMANN, M. *et al.*, 2020). No estudo de Zhou *et al.* (2020) foi demonstrado que SARS-CoV-2 interage com o seu receptor ECA 2 numa afinidade dez vezes maior do que com SARS-CoV, agente etiológico da epidemia de síndrome respiratória aguda grave que ocorreu no final de 2002 na China, o que demonstra seu maior potencial de infecção (RAPP *et al.*, 2020).

Figura 1 - Estrutura do SARS-CoV-2



Fonte: Adaptado de MOUSAVIZADEH; GHASEMI, 2021.

As mutações adaptativas ocorridas no genoma do SARS-CoV-2 têm gerado preocupação, pois estão relacionadas com o aumento da transmissibilidade, gravidade da doença, redução do desempenho de vacinas, diminuição da eficácia terapêutica, e até mesmo de ferramentas de diagnóstico (CHEN, W.; HOTEZ; BOTTAZZI, 2020). O surgimento de variantes do SARS-CoV-2 fez com que no final de 2020, a OMS junto com parceiros, caracterizassem as variantes em Variantes de Interesse (VOI, do inglês, *variant of interest*) e Variantes de Preocupação (VOC, do inglês, *variant of concern*), as quais estão elencadas na Tabela 1 (WHO, 2022c).

A troca de um único aminoácido pode fazer com que o vírus se torne despercebido pelo sistema imunológico, o que contribui para a sua adaptação no hospedeiro, mutação e surgimento de novas variantes, com características diferentes das cepas originais (ALEEM; AKBAR SAMAD; SLENKER, 2022).

As VOC possuem em comum mutações nas estruturas da proteína S, especificamente no domínio de ligação ao receptor (RBD, do inglês *receptor-binding domain*) e no domínio N terminal (N-TD, do inglês *N-terminal domain*), que são importantes alvos de vacinas (HARVEY *et al.*, 2021). Essas mutações contribuem para o aumento da afinidade dos receptores de ligação ECA 2 e partículas virais, aumentando, dessa forma, a infectividade (WU, K. *et al.*, 2021).

Tabela 1- Variantes de preocupação atualmente designadas (VOC)

Denominação OMS	Alterações de Aminoácidos	Local e data de relato	Data da designação
Alfa	+S:484K +S:452R	Reino Unido, setembro-2020	18 de dezembro de 2020
Beta	+S:L18F	África do Sul, maio-2020	18 de dezembro de 2020
Gama	+S:681H	Brasil, novembro-2020	11 de janeiro de 2021
Delta	+S:417N +S:484K	Índia, Outubro-2020	VOI: 4 de abril de 2021 VOC: 11 de maio de 2021
Ômicron	+S:R346K +S:L452X +S:F486V	Vários países, novembro-2021	26 de novembro de 2021

Fonte: WHO. World Health Organization. Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. Acesso em: 31 mai. 2022.

2.2 Transmissão e Fisiopatologia da COVID-19

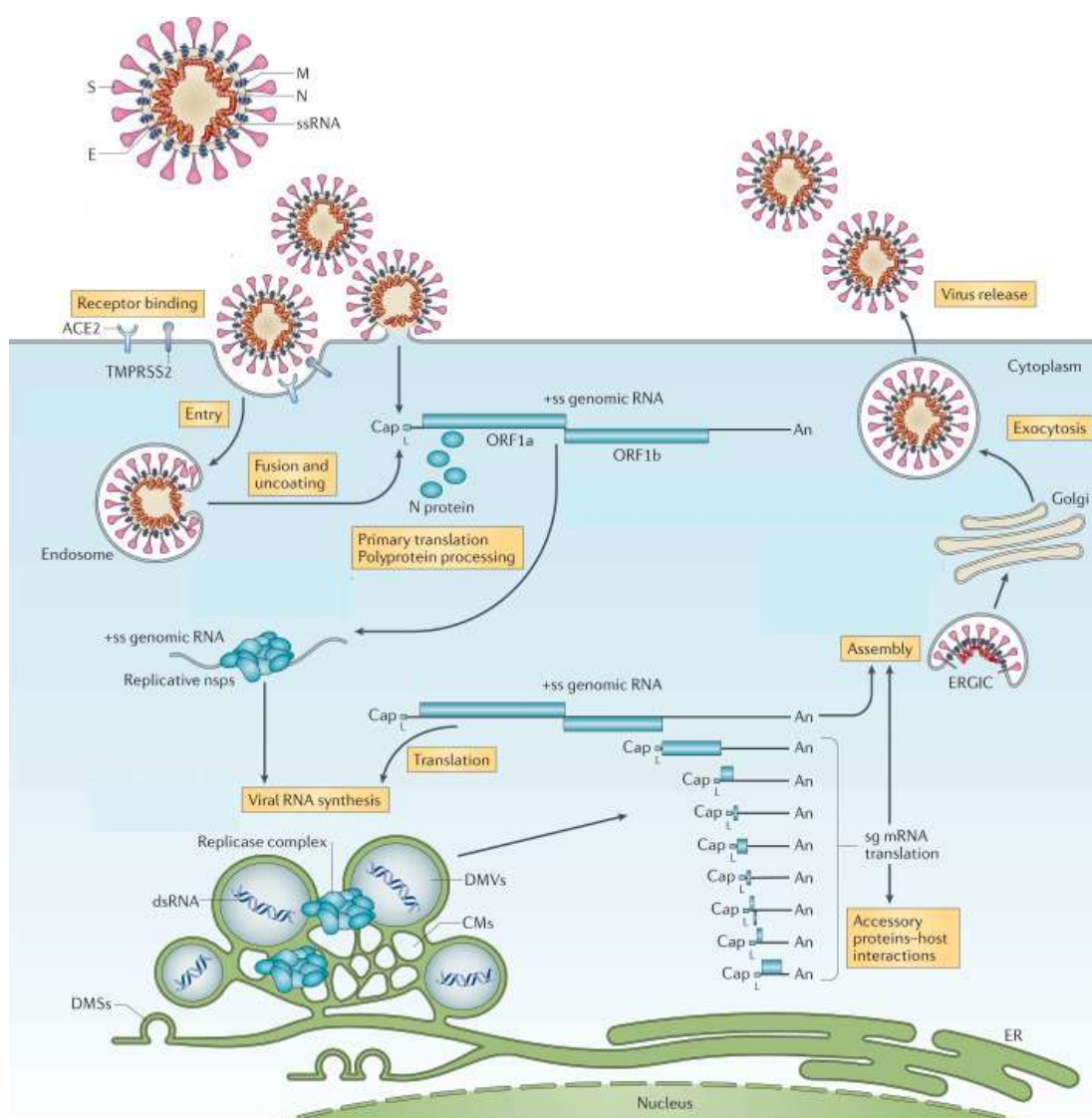
A transmissão do vírus pode ocorrer de forma direta, por meio de gotículas e/ou aerossóis, assim como pelo contato com superfícies e objetos contaminados e posterior contato com mucosas nasal, ocular ou oral (MEYEROWITZ *et al.*, 2021; ONG *et al.*, 2020).

Os receptores ECA 2 são expressos em diferentes tecidos, órgãos e células humanas, tais como pulmões, endotélio, esôfago, coração, fígado, rins, bexiga, intestino e cérebro (BOURGONJE *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2020). A expressão e a distribuição desses receptores de entrada do vírus nas células estão intimamente relacionadas com o tropismo viral e sintomas clínicos da doença (LI, Yanwei *et al.*, 2020).

Como mencionado anteriormente, a porta de entrada do coronavírus nas células é o receptor ECA 2 e para que esse processo ocorra é necessário a interação com a proteína S e presença da protease TMPRSS2. O ciclo replicativo do vírus se inicia a partir da interação da

proteína S, por meio de seu domínio RBD com o receptor ECA 2, juntamente com a TMPRSS2, a qual processa a proteína S em seus domínios, S1 (fixação) e S2 (fusão), por meio do sítio específico de furina. Na sequência, ocorre a fusão de membranas e o escape do capsídeo viral de dentro do endossomo, iniciando a tradução de ORF's (do inglês, *open reading frames*) do RNA viral em poliproteínas estruturais e não estruturais. Essas poliproteínas são processadas e novas partículas virais são montadas e liberadas das células por exocitose (Figura 2) (CHEN, H.; CHEN; SHEN, 2020; V'KOVSKI *et al.*, 2021).

Figura 2- Ciclo de replicação do coronavírus



Fonte: Adaptado de V'KOVSKI, Philip *et al.* Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. Nature reviews. **Microbiology** vol. 19,3, 155-170, 2021. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41579-020-00468-6>. Acesso em: 08 jan. 2022.

A patogênese da COVID-19 envolve, principalmente, o contato do coronavírus com células do epitélio nasal, onde há interação com os receptores ECA 2. Nesse local, ocorre o evento de replicação viral e disseminação do vírus para outras células (SINGH *et al.*, 2021). Essa fase inicial pode ser caracterizada por uma resposta imune inata limitada e os indivíduos infectados podem ser assintomáticos (MASON, 2020). As células epiteliais orais também são descritas como importante local de entrada para a COVID-19 (MHASKE *et al.*, 2020). A nível pulmonar, SARS-CoV-2 invade principalmente as células alveolares do tipo II e essa infecção gera uma resposta imunológica local com recrutamento de monócitos, macrófagos e células dendríticas que por sua vez, liberam uma série de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interleucina-6 (IL-6) (SUBBARAO; MAHANTY, 2020). Se essa resposta ocorrer de forma acentuada, progride-se para casos mais graves da doença (TAY *et al.*, 2020).

A infecção viral pulmonar dificulta a troca gasosa alveolar devido ao aumento da permeabilidade vascular, o que contribui para o edema pulmonar, isquemia, ativação da coagulação intravascular disseminada (CID), insuficiência pulmonar hipóxica e lesão pulmonar progressiva (TEUWEN *et al.*, 2020).

2.3 Resposta imune contra o SARS-CoV-2

A resposta imune inata é a primeira tentativa de defesa do organismo após uma invasão celular por patógenos e possui papel importante na evolução clínica da COVID-19 (GOLONKA *et al.*, 2020). O reconhecimento do SARS-CoV-2 ocorre por meio das partículas virais contendo RNA fita simples, que funcionam como padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs), e são reconhecidos pelos receptores *Toll-like 7* (TLR7) presente em macrófagos e células dendríticas; o resultado dessa interação é a ativação da cascata de sinalização e secreção de citocinas pró-inflamatórias como IL-1, IL-6, proteína quimioatraente de monócitos-1 (MCP-1, do inglês *monocyte chemotactic protein-1*), proteína inflamatória de macrófagos-1 alfa (MIP-1, do inglês *macrophage inflammatory protein-1 alpha*), fator de necrose tumoral α (TNF- α , do inglês *tumor necrosis factor α*) e interferon 1 (IFN-1) (YAZDANPANA; HAMBLIN; REZAEI, 2020).

O próximo passo para combater a infecção pelo SARS-CoV-2 se concentra na resposta imune adaptativa, que é estimulada por meio da apresentação do antígeno viral pelas proteínas do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*) de classe I às células T citotóxicas CD8+, que por sua vez, são ativadas e se proliferam em células T efectoras e de memória (AZKUR *et al.*, 2020). As células

T efetoras são responsáveis pela destruição de células infectadas, inclusive os próprios linfócitos, o que contribui para a linfopenia observada em pacientes com COVID-19 (SEYED HOSSEINI *et al.*, 2020). A apresentação de antígeno pelas células apresentadoras de antígenos (APC, do inglês *antigen presenting cells*) às células T CD4+ induz a secreção de citocinas e ativação das células B que secretam anticorpos específicos contra o vírus (LI, G. *et al.*, 2020).

A transição da resposta imune inata para adaptativa é um fator importante para evolução clínica de indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 (GARCÍA, 2020). Respostas inatas são protetoras ao organismo, enquanto, respostas adaptativas que desencadeiam estados inflamatórios demasiados, pioram o quadro clínico do paciente (TOOR *et al.*, 2021). A gravidade dos casos e a mortalidade da COVID-19 têm sido relacionadas à ativação exacerbada do sistema imunológico (COPERCHINI *et al.*, 2020).

A invasão celular pelo SARS-CoV-2 e evasão do sistema inato associado à desregulação do sistema adaptativo são responsáveis pela chamada “tempestade de citocinas”, a qual é caracterizada por ser uma resposta inflamatória sistêmica exacerbada devido à grande produção e liberação de quimiocinas e citocinas pró-inflamatórias (XU, Z. *et al.*, 2020). Esse evento também contribui para o aumento da permeabilidade vascular devido a secreção de fator de crescimento endotelial vascular (VEGF, do inglês *vascular endothelial growth factor*), MCP-1, IL-8 e redução da expressão de E-caderina em células epiteliais, que por sua vez, desencadeia a hipotensão e disfunção pulmonar em pacientes com síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) (SINGH *et al.*, 2021).

2.4 Características clínicas da COVID-19

A COVID-19 se manifesta de forma heterogênea, desde indivíduos assintomáticos até casos graves que podem evoluir a óbito (ASAKURA; OGAWA, 2021). Segundo o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*), os pacientes infectados por SARS-CoV-2 podem ser classificados em três categorias, de acordo com a gravidade da doença: I) leve a moderada (sintomas leves até pneumonia); II) grave (dispneia, hipóxia ou mais de 50% de envolvimento pulmonar nos exames de imagem) e III) crítico (insuficiência respiratória, choque ou disfunção de múltiplos órgãos) (CDC, 2022).

As manifestações clínicas relatadas variam e incluem febre, dispneia, cefaleia, cansaço, tosse seca, dores de garganta, dores musculares e articulares e sintomas

gastrintestinais, como diarreia, vômitos ou náuseas (KASINATHAN; SATHAR, 2020). Além disso, distúrbios olfativos e gustativos como anosmia (ausência de olfato) e ageusia (ausência de paladar) também podem estar presentes (GIACOMELLI *et al.*, 2020). Entretanto, com o surgimento de novas variantes virais, pode-se especular que características clínicas comuns da COVID-19 em períodos específicos foram atribuíveis à variante circulante predominante (LEE *et al.*, 2022).

Desde o início da pandemia, observa-se que alguns fatores como idade avançada e presença de comorbidades pré-existentes como hipertensão arterial, diabetes, doenças respiratórias, distúrbios cardio e cerebrovasculares, distúrbios do sistema endócrino, distúrbios do sistema digestivo e câncer são responsáveis por elevar a taxa de fatalidade dos casos de COVID-19 (FATHI *et al.*, 2021; NG *et al.*, 2021).

2.5 Diagnóstico e tratamento da COVID-19

O diagnóstico confirmatório da doença é realizado por testes moleculares, por meio da amplificação de genes virais por reação em cadeia de polimerase de transcrição reversa em tempo real (RT-PCR, do inglês *reverse transcriptase-polymerase chain reaction*), em amostras do trato respiratório (UMAKANTHAN *et al.*, 2020). Entretanto, existem outros testes laboratoriais disponíveis que detectam antígenos virais e/ou anticorpos produzidos contra o coronavírus e servem de triagem para a COVID-19, como em amostras sanguíneas (YÜCE; FILIZTEKIN; ÖZKAYA, 2021). Exames de imagem, como a tomografia de tórax, auxiliam no diagnóstico e são muito úteis para avaliar o comprometimento pulmonar (CHUNG *et al.*, 2020). Achados tomográficos implicam em sombras de vidro fosco no parênquima pulmonar bilateral e opacidades pulmonares consolidativas (JIN *et al.*, 2020).

O tratamento da COVID-19 depende do período e da gravidade da doença. No início, agentes antivirais e anticorpos neutralizantes podem auxiliar, enquanto num segundo período, predominantemente inflamatório, é interessante a terapia com agentes imunomoduladores, anti-inflamatórios e anticoagulantes (GANDHI; LYNCH; DEL RIO, 2020).

2.6 Alterações do hemograma na COVID-19

As alterações hematológicas em pacientes com COVID-19 incluem as três linhagens celulares: eritrócitos, leucócitos e plaquetas (XU, P.; ZHOU; XU, 2020). Além disso, alguns

parâmetros hematológicos obtidos nos exames de rotina laboratorial podem ser utilizados na estratificação de risco de pacientes com COVID-19 (PONTI *et al.*, 2020).

Estudos revelam que o achado mais comum no hemograma de pacientes com COVID-19 é a linfopenia, caracterizada por contagem de linfócitos inferiores a 1.000/ μL (CHEN, R. *et al.*, 2020; ZHANG, J. *et al.*, 2021). Além disso, a linfopenia é destaque em pacientes com curso grave da doença e está relacionada com a necessidade de cuidados intensivos (HUANG *et al.*, 2020; TAN, L. *et al.*, 2020; WANG, J. *et al.*, 2020).

A linfopenia observada nos casos de COVID-19 pode ser devido ao fato dos receptores ECA 2 serem expressos nos linfócitos, que quando invadidos acabam se rompendo (XU, Z. *et al.*, 2020). Outras causas podem ser relacionadas à hematopoese deficiente devido à invasão viral da medula óssea e apoptose como resposta ao estado hiperinflamatório (WANG, F. *et al.*, 2020; YAO *et al.*, 2020). Além disso, as células T possuem atividade imunomoduladora, reduzindo negativamente a resposta inflamatória, porém a redução dessas células contribui ainda mais para o estado hiperinflamatório (LIU, Yuwei *et al.*, 2020).

Além da linfopenia, outro achado frequente no hemograma é a neutrofilia (contagem de neutrófilos superior a 8.000/ μL) que está relacionada ao estado hiperinflamatório e a tempestade de citocinas na infecção pelo SARS-CoV-2, exceto nos casos de coinfeções bacterianas (PALLADINO, 2021). No estudo de Zini *et al.* (2020) foi relatada a presença de alterações morfológicas dos neutrófilos, como redução do número de segmentação nuclear e presença de granulação citoplasmática imatura. Porém, essas alterações foram transitórias e prévias ao aparecimento de linfócitos reativos, que são característicos de infecções virais (ZINI *et al.*, 2020).

No estudo de Qin *et al.* (2020) foi demonstrado que em casos graves de COVID-19 a contagem de linfócitos, monócitos, eosinófilos e basófilos tendem a ser menores, enquanto que a contagem de neutrófilos tende a ser maior. Henry *et al.* (2020) constataram que em pacientes com doença grave e fatal, a contagem de leucócitos estava significativamente aumentada e a contagem de linfócitos e plaquetas diminuídas em comparação com pacientes não graves e sobreviventes.

As plaquetas possuem papel crucial na hemostasia e também participam do processo inflamatório e do sistema imunológico (KILERCIK *et al.*, 2021). A trombocitopenia, redução da contagem de plaquetas, está relacionada a um risco elevado de mortalidade em pacientes com COVID-19 (WOOL; MILLER, 2021).

O tecido pulmonar comprometido e as células endoteliais pulmonares danificadas podem ativar as plaquetas a nível pulmonar, aumentando dessa forma seu consumo devido a

agregação e formação de microtrombos (XU, P.; ZHOU; XU, 2020). Além disso, a redução da contagem de plaquetas pode ocorrer devido a estimulação de autoanticorpos contra plaquetas pelo SARS-CoV-2 e consequente eliminação pelo sistema reticulo endotelial (XU, P.; ZHOU; XU, 2020)

Alguns estudos realizaram a comparação da contagem de plaquetas em pacientes graves e não graves com COVID-19 e verificaram que em pacientes graves, as contagens estavam reduzidas (GUAN *et al.*, 2020; LIU, W. *et al.*, 2020; LIU, Yingxia *et al.*, 2020).

A anemia também é frequentemente observada em pacientes com COVID-19 e essa diminuição da concentração de hemoglobina pode ser em decorrência de alterações no metabolismo do ferro (PALLADINO, 2021). Além disso, como mencionado anteriormente, o SARS-CoV-2 pode ser capaz de infectar as células-tronco hematopoiéticas na medula óssea e consequentemente inibir a eritropoese (WANG, F. *et al.*, 2020; YAO *et al.*, 2020).

Outro parâmetro, da rotina do hemograma, que demonstra alteração na infecção pelo SARS-CoV-2 é o RDW (amplitude de distribuição de eritrócitos, do inglês *red cell distribution width*) (KILERCIK *et al.*, 2021). O RDW indica a variação do tamanho dos eritrócitos, quando elevado (relatado como anisocitose) pode estar relacionado com um aumento da taxa de destruição dos eritrócitos, eritropoiese disfuncional e/ou redução da vida útil dos eritrócitos (KARIMI SHAHRI; NIAZKAR; RAD, 2021). Henry *et al.* (2020), relatou possíveis causas da presença de anisocitose nos pacientes com COVID-19: lesão citopática direta devido à infecção de eritrócitos circulantes ou seus precursores da medula óssea; dano eritrocitário indireto consequente à anemia hemolítica ou coagulação intravascular e alteração do metabolismo do ferro devido à resposta inflamatória persistente.

2.7 Parâmetros hemocitométricos adicionais na COVID-19

Os parâmetros hemocitométricos adicionais de neutrófilos e linfócitos que dizem respeito às suas complexidades internas (estrutura e granulosidade) e metabolismo (atividade celular), fornecem informações sobre a resposta inflamatória mediada por células (SAXENA; PATI, 2019). Esses parâmetros são obtidos de equipamentos hematológicos de última geração, que utilizam a citometria de fluxo de fluorescência para realizar a contagem diferencial dos leucócitos (SYSMEX, 2017).

Essa diferenciação ocorre com base no tamanho (dispersão direta; FSC, do inglês *forward scatter*), estrutura interna/granularidade (dispersão lateral; SSC, do inglês *side scatter*) e conteúdo de DNA/RNA (expressão de fluorescência; SFL, do inglês *side*

fluorescence) (MARTENS *et al.*, 2021). Esses analisadores fornecem resultados não explorados na prática clínica, relatados como parâmetros de pesquisa (MARTENS *et al.*, 2021).

Os citômetros de fluxo utilizam lasers como fonte de luz e quando as células previamente marcadas com marcadores de fluorescência em seu material genético fluem através de um canal (célula de fluxo), sinais de luz dispersos e fluorescentes são detectados por fotodiodos e transformados em sinais eletrônicos, os quais são traduzidos pelo computador, que fornece um diagrama de dispersão (MCKINNON, 2018).

Dentre os parâmetros hemocitométricos adicionais reportados pelo equipamento estão o NE-SSC que representa a reatividade dos neutrófilos, NE-SFL que representa a atividade metabólica dos neutrófilos, LY-SSC que representa a irregularidade do núcleo linfocitário, granulação citoplasmática e/ou vacuolização e o LY-SFL que representa a atividade metabólica dos linfócitos e/ou permeabilidade da membrana celular (SYSMEX, 2017).

A complexidade interna dos neutrófilos, representado pelo NE-SSC, está relacionada com a mudança na funcionalidade celular, como por exemplo a presença de granulações tóxicas e/ou vacúolos citoplasmáticos (USTYANTSEVA; KHOKHLOVA; AGADZHANYAN, 2019). Essas alterações estão presentes em resposta à infecção e inflamação (MARIONNEAUX, 2020).

Os neutrófilos ativados secretam várias citocinas pró-inflamatórias e moléculas de superfície para apresentação de antígenos e ativação de células T (LI, Yang *et al.*, 2019). Quando ativados, os neutrófilos apresentam alterações na composição dos lipídeos de membrana, assim como maior atividade citoplasmática devido a produção ativa de citocinas e o resultado dessas alterações é acompanhado por aumento de material genético, que é altamente corado por corante fluorescente, aumentando assim o sinal fluorescente e a intensidade do NE-SFL, refletindo sua atividade metabólica (USTYANTSEVA; KHOKHLOVA; AGADZHANYAN, 2019).

Em relação aos parâmetros adicionais de linfócitos, estes fornecem informações sobre a resposta inflamatória mediada por células e por anticorpos (SAXENA; PATI, 2019). Os linfócitos reativos possuem maior sinal de fluorescência (LY-SFL), enquanto que os linfócitos B produtores de imunoglobulinas possuem maior complexidade interna (LY-SSC) (SAXENA; PATI, 2019)

Entretanto, estudos envolvendo esses parâmetros hemocitométricos de pesquisa e a relação com a COVID-19 são raros (MARTENS *et al.*, 2021; WANG, Z. *et al.*, 2020; YIP *et*

al., 2020). Wang *et al.* (2020) compararam o número de linfócitos altamente fluorescente e a gravidade dos pacientes com COVID-19 internados na China. Yip *et al.* (2020) também analisaram parâmetros adicionais de linfócitos para avaliar a resposta imunológica e gravidade da doença. Martens *et al.* (2020), analisaram características de novos parâmetros hemocitométricos de pacientes com e sem COVID-19; assim como, em relação à condição clínica denominada “Síndrome de Tempestade de Citocinas”.

Portanto, os parâmetros hemocitométricos adicionais podem ser ferramentas úteis na triagem e manejo clínico de pacientes infectados com SARS-CoV-2, haja visto a participação das células sanguíneas na patogênese da COVID-19 (KILERCİK *et al.*, 2021).

2.8 Marcadores de inflamação na COVID-19

Sabe-se que o processo inflamatório é indispensável para se obter uma resposta imune eficaz e reestabelecer a homeostase (YE; WANG; MAO, 2020). Porém, o estado hiperinflamatório decorrente da tempestade de citocinas é mau prognóstico da COVID-19, e pode levar à SDRA e/ou falência de múltiplos órgãos (HUANG *et al.*, 2020).

Portanto, os exames laboratoriais em pacientes hospitalizados com COVID-19 devem incluir além do hemograma, marcadores de inflamação, como por exemplo, a proteína C reativa (PCR) (HUANG *et al.*, 2020). Além disso, estudos demonstram a aplicação potencial de dados derivados do hemograma, como a relação de neutrófilos/linfócitos (RNL), a relação de plaquetas/linfócitos (RPL) e a relação de linfócitos/monócitos (RLM) como marcadores de inflamação e gravidade da COVID-19 (KILERCİK *et al.*, 2021).

A PCR é considerada um biomarcador da fase aguda do processo inflamatório, produzida em resposta ao aumento de citocinas inflamatórias, principalmente IL-6 (SPROSTON; ASHWORTH, 2018). Além disso, a PCR tem sido relacionada a pior prognóstico na COVID-19 e danos teciduais, especialmente pulmonar (SADEGHI-HADDAD-ZAVAREH *et al.*, 2021). No estudo de Tan, Chaochao *et al.*, (2020) os níveis aumentados de PCR (> 20,42 mg/L) demonstraram identificar precocemente a gravidade dos pacientes, antes mesmo dos achados tomográficos.

Os danos celulares envolvendo a PCR incluem o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias devido à hiperatividade da Angiotensina II (Ang II), ativação do sistema complemento e indução de apoptose (MOSQUERA-SULBARAN *et al.*, 2021). Como já mencionado, o SARS-CoV-2 invade as células do hospedeiro por meio do receptor de entrada ECA-2. A ECA-2 possui papel protetor no organismo pois converte a Ang II em Ang 1-7, que

possui efeitos benéficos, contrários a Ang II (NI *et al.*, 2020). A internalização do complexo vírus-ECA-2 reduz a quantidade dessa enzima na superfície e conseqüentemente, aumenta os efeitos da Ang II como a indução de produção de PCR, citocinas pró-inflamatórias, estresse oxidativo, fibrose, vasoconstrição, entre outros (MOSQUERA-SULBARAN *et al.*, 2021).

A RNL é obtida a partir da divisão da contagem absoluta de neutrófilos por linfócitos em um hemograma de rotina, entretanto é relatada como um fator de risco independente em pacientes graves com COVID-19 (LIU, Yuwei *et al.*, 2020). A proporção elevada de neutrófilos para linfócitos é muito útil e pode prever o prognóstico do COVID-19 (YANG, A. *et al.*, 2020). Sugere-se que em casos graves da doença, ocorra a mudança de leucócitos para neutrófilos ao invés de linfócitos e, possivelmente, a RNL pode ser uma ferramenta para auxiliar o médico no tratamento clínico de pacientes (POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2020).

A RLM e RPL também são ferramentas eficazes e podem auxiliar no acompanhamento de pacientes com COVID-19 (SEYIT *et al.*, 2021). A RPL é um marcador que avalia tanto o processo inflamatório quanto a funcionalidade das plaquetas (QU *et al.*, 2020). O estudo realizado por Bastug *et al.* (2020) revelou que as RNL, RLM e RPL podem ser usados como uma ferramenta diagnóstica preditiva para determinar pacientes que precisam de suporte na UTI.

A proporção de linfócitos diminuídos e monócitos elevados resultam em RLM diminuída, porém, esse resultado aumenta a chance de mortalidade em indivíduos com COVID-19.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a utilização de parâmetros hemocitométricos como preditores de mortalidade em pacientes hospitalizados com COVID-19, de acordo com o desfecho final (alta hospitalar ou óbito) em 30 dias.

3.2 Objetivos específicos

- Comparar os resultados do hemograma, dos parâmetros hemocitométricos adicionais (NE-SSC, NE-SFL, LY-SSC e LY-SFL) e dos marcadores de inflamação (PCR, RNL, RPL e RLM) entre os pacientes sobreviventes e não sobreviventes, na admissão hospitalar e em até 24 horas antecedendo o desfecho final (alta hospitalar ou óbito);
- Determinar o ponto de corte dos parâmetros laboratoriais identificados como fatores de risco no estudo;
- Realizar a análise de sobrevivência dos indivíduos com COVID-19, de acordo com o ponto de corte;
- Identificar possíveis fatores prognósticos independentes para COVID-19.

4 METODOLOGIA

4.1 Delineamento do estudo

Trata-se de um estudo observacional, com dados dos pacientes com COVID-19 obtidos do laboratório do Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais (HURCG), no município de Ponta Grossa – Paraná, durante o período de julho a agosto de 2021. As informações utilizadas na pesquisa foram coletadas após a aprovação pelo comitê científico do HURCG e pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa, parecer N° 4.825.617. Esta investigação foi baseada na obtenção exclusivamente de dados; portanto, nenhuma coleta sanguínea foi realizada e não se fez necessária a aplicação do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). A pesquisa foi realizada em conformidade com a Declaração de Helsinki.

Foram incluídos no estudo os pacientes com diagnóstico de COVID-19 definido por RT-PCR em esfregaço nasofaríngeo e idade igual ou superior a 18 anos. Foram excluídos da pesquisa todos os pacientes que apresentaram patologias hematológicas, ausência de informações clínicas, laboratoriais e/ou de desfecho final (alta ou óbito); como por exemplo, os pacientes que foram transferidos e pacientes com tempo de internamento superior a 30 dias. Os pacientes foram estratificados em dois grupos, de acordo com o desfecho final: Grupo I) Sobreviventes e Grupo II) Não Sobreviventes.

Foram adquiridas as seguintes variáveis com relação aos dados demográficos e clínicos: idade, sexo, índice de massa corporal (IMC), presença de comorbidades, sintomas relatados, comprometimento pulmonar (avaliado por meio da tomografia computadorizada), intubação orotraqueal e presença de infecções secundárias durante o período de hospitalização, medicamentos utilizados, tempo de internamento e desfecho final.

Os parâmetros hematológicos foram obtidos na admissão hospitalar do paciente e em até 24 horas antecedendo o desfecho final (alta ou óbito), processados no equipamento automatizado XN-1000 (Sysmex[®], Kobe, Japão). Foram selecionados os seguintes parâmetros hematológicos de rotina: contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, Volume Corpuscular Médio (VCM), Hemoglobina Corpuscular Média (HCM), Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média (CHCM), amplitude de distribuição dos eritrócitos (RDW), contagem total de leucócitos, contagem absoluta de neutrófilos, contagem absoluta de linfócitos, contagem absoluta de monócitos e contagem de plaquetas.

O analisador hematológico XN-1000 utiliza a citometria de fluxo de fluorescência para a contagem diferencial de leucócitos, permitindo a diferenciação de subconjuntos celulares com base no tamanho (dispersão direta; FSC), estrutura interna/granularidade (dispersão lateral; SSC) e conteúdo de DNA/RNA (expressão de fluorescência; SFL) (SYSMEX, 2019). Desta forma, foram analisados novos parâmetros hemocitométricos de pesquisa, obtidos por citometria de fluxo: reatividade dos neutrófilos (NE-SSC), atividade metabólica (NE-SFL), irregularidade do núcleo linfocitário, granulação citoplasmática e/ou vacuolização (LY-SSC), atividade metabólica dos linfócitos e/ou permeabilidade da membrana celular (LY-SFL), relatados em unidades de dispersão de luz (Ch, do inglês *channels*).

Como marcadores de inflamação, foram calculadas as razões: neutrófilo/linfócito (RNL), plaquetas/linfócito (RPL) e linfócito/monócito (RLM). A RNL foi calculada dividindo o número total de neutrófilos pelo número total de linfócitos do sangue periférico. A RPL foi calculada com base nas contagens sanguíneas periféricas de plaquetas e linfócitos, dividindo o número de plaquetas pelo número de linfócitos. A RLM foi calculada dividindo a contagem absoluta de linfócitos pela contagem absoluta de monócitos no sangue periférico. Além disso, foram selecionados os resultados de PCR quantitativa na admissão hospitalar, fornecido pelo equipamento VITROS® Fs 5.1 (Ortho Clinical Diagnostics, Rochester, NY, USA).

4.2 Análise estatística

A normalidade dos dados foi determinada utilizando o teste de *Kolmogorov-Smirnov*. Como a distribuição da maioria das variáveis (idade, tempo de internamento, IMC, hemoglobina, hematócrito, HCM, CHCM, RDW, leucócitos, neutrófilos, linfócitos, monócitos, plaquetas, RNL, RPL, RLM, NE-SSC, NE-SFL e LY-SSC) não foi normal, os dados foram apresentados em mediana e intervalo interquartil.

A comparação das variáveis quantitativas entre os grupos foi realizada pelo teste de *Mann-Whitney*. As variáveis categóricas foram apresentadas em número e percentual (%) e a comparação entre os grupos foi realizada por meio do teste de Qui-Quadrado (χ^2) ou Exato de Fisher, quando necessário.

A análise de regressão logística univariada foi usada para avaliar os fatores de risco para prever a mortalidade em pacientes com COVID-19. Curvas ROC (*receiver operating characteristic*) foram construídas para avaliar o valor prognóstico dos parâmetros laboratoriais na admissão, obtendo a área sob a curva (AUC), sensibilidade, especificidade,

razão de verossimilhança positiva, razão de verossimilhança negativa e o ponto de corte. Para a análise de sobrevivência, Curvas de *Kaplan-Meier* foram construídas. O modelo de riscos proporcionais de Cox foi realizado para identificar fatores prognósticos independentes.

Os dados foram analisados pelo programa SPSS *Statistics 20*[®] (IBM Corp., Armonk, New York, USA) e MedCalc[®], versão 9.2.1.0 (MedCalc Software, Mariakerke, Bélgica). Em todas as análises, o nível de significância foi considerado quando $p < 0,05$.

5 RESULTADOS

Os dados de 230 pacientes hospitalizados com COVID-19 foram analisados. Com base nos critérios de exclusão foram selecionados 140 indivíduos para o estudo. Os pacientes foram divididos em um grupo de sobreviventes ($n=102$) e um grupo de não sobreviventes ($n=38$). A Tabela 2 demonstra a caracterização desses pacientes, assim como a comparação entre os grupos avaliados no estudo. O grupo de não sobreviventes apresentou indivíduos com maior faixa etária (Tabela 2). Não houve diferença de sexo e IMC entre os dois grupos (Tabela 2).

Observou-se que o grupo de não sobreviventes apresentou maior percentual de indivíduos com hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus e doença cardiovascular (Tabela 2).

Os resultados da tomografia computadorizada mostraram que o grupo de sobreviventes demonstrou maior percentual de indivíduos com comprometimento pulmonar entre 25 e 50%; enquanto, no grupo de não sobreviventes o comprometimento pulmonar foi maior que 50% (Tabela 2). A tomografia computadorizada não foi realizada nos pacientes que demonstraram instabilidade no momento da admissão hospitalar ou em gestantes.

Além disso, o grupo de não sobreviventes exibiu maior percentual de indivíduos que foram submetidos a intubação orotraqueal, assim como apresentaram infecções secundárias durante a período de hospitalização (Tabela 2). O tempo de internamento foi superior para os indivíduos não sobreviventes (Tabela 2).

Com relação aos sintomas, todos os pacientes relataram sintomas gripais, como por exemplo: tosse, mialgia, coriza, febre, calafrios, cefaleia e mal-estar geral. Além disso, 56 (40,0%) pacientes referiram dispneia, 46 (32,8%) astenia, 13 (9,2%) hipoxemia, 7 (5,0%) dor torácica, 6 (4,3%) anosmia, 4 (2,9%) odinofagia, 4 (2,9%) disgeusia e 1 (0,7%) lombalgia. Com relação aos sintomas gastrointestinais, 14 (10,0%) pacientes apresentaram diarreia, náuseas e vômitos, sendo que apenas um (0,7%) paciente relatou dor abdominal.

Na admissão hospitalar, as seguintes classes de medicamentos foram utilizadas no tratamento profilático: anticoagulantes em 134 (95,7%), imunossupressores em 127 (90,7%) e antibióticos em 78 (55,7%) dos pacientes com COVID-19.

Tabela 2 - Características demográficas e clínicas dos pacientes com COVID-19

Variáveis	Sobreviventes (n=102)	Não Sobreviventes (n=38)	Valor de p
Idade, anos	48 (37 – 62)	64 (55 – 76)	<0,001*
Sexo, n (%)			
<i>Feminino</i>	41 (40)	16 (42)	0,991
<i>Masculino</i>	61 (60)	22 (58)	
IMC, kg/m ²	30 (26 – 33)	28 (24 – 32)	0,230
Comorbidades, n (%)			
<i>Doença cardiovascular</i>	5 (4,9)	12 (31,6)	<0,001*
<i>Obesidade</i>	10 (9,8)	4 (10,5)	0,998
<i>Diabetes mellitus</i>	20 (19,6)	19 (50,0)	<0,001*
<i>DPOC</i>	4 (3,9)	5 (13,2)	0,113
<i>Hipertensão arterial</i>	35 (34,3)	22 (57,9)	0,019*
<i>AVC prévio</i>	4 (3,9)	4 (10,5)	0,213
<i>Ausência</i>	52 (50,9)	11 (28,9)	0,032*
Comprometimento Pulmonar, n (%)			
<25%	19 (18,6)	8 (21,1)	0,934
25 – 50%	51 (50,0)	5 (13,2)	<0,001*
>50%	29 (28,4)	22 (57,9)	0,002*
<i>Não realizado</i>	3 (2,9)	3 (7,9)	0,344
Intubação orotraqueal, n (%)	21 (20,6)	36 (94,7)	<0,001*
Infecções secundárias, n (%)	18 (17,6)	23 (60,5)	<0,001*
Tempo de internamento, dias	11 (6 – 18)	18 (10 – 24)	0,017*

IMC, Índice de Massa Corporal. DPOC, doença pulmonar obstrutiva crônica. AVC, Acidente Vascular Cerebral.
*diferença estatística entre os grupos, p<0,05. Fonte: os autores.

A Tabela 3 demonstra os parâmetros laboratoriais avaliados no estudo no momento da admissão. Observou-se que CHCM, RDW-CV, contagem absoluta de neutrófilos, NE-SSC, RNL e PCR exibiram diferença estatística entre os grupos (Tabela 3). Para identificar se esses parâmetros permaneceram alterados até o desfecho final, foi realizada a avaliação em até 24 horas antecedendo a alta hospitalar ou o óbito (Tabela 4). A maioria dos parâmetros eritrocitários demonstraram diferença estatística entre os grupos, com exceção do HCM, contagem absoluta de monócitos, LY-SFL e RPL (Tabela 4).

Tabela 3 - Parâmetros laboratoriais na admissão dos pacientes com COVID-19

	Admissão		Valor de p
	Sobreviventes (n=102)	Não Sobreviventes (n=38)	
<i>Parâmetros do hemograma</i>			
Eritrócitos (M/ μ L)	4,62 (4,14 - 5,06)	4,36 (3,69 - 4,94)	0,220
Hemoglobina (g/dL)	13,7 (12,0 - 14,8)	13,0 (11,4 - 14,6)	0,267
Hematócrito (%)	39,8 (35,0 - 42,7)	38,6 (34,3 - 42,5)	0,606
VCM (fL)	85,3 (82,4 - 88,5)	87,1 (82,2 - 93,1)	0,127
HCM (pg)	29,5 (28,3 - 30,4)	29,6 (27,7 - 30,8)	0,964
CHCM (%)	34,3 (33,7 - 34,9)	33,6 (32,9 - 34,2)	0,002*
RDW-CV (%)	13,0 (12,3 - 13,6)	13,4 (12,9 - 14,5)	0,008*
Leucócitos (células/ μ L)	8.790 (6.280 - 12.750)	10.685 (7.540 - 16.520)	0,059
Neutrófilos (células/ μ L)	7.682 (5.150 - 10.611)	9.635 (6.107 - 15.388)	0,047*
Linfócitos (células/ μ L)	798 (570 - 1.100)	648 (473 - 1.107)	0,207
Monócitos (células/ μ L)	382 (244 - 600)	411 (234 - 592)	0,938
Plaquetas (10^3 células/ μ L)	206 (169 - 260)	190 (141 - 270)	0,387
<i>Parâmetros hemocitométricos</i>			
NE-SSC (Ch)	153 (150 - 157)	156 (153 - 158)	0,008*
NE-SFL (Ch)	51 (49 - 54)	51 (49 - 53)	0,549
LY-SSC (Ch)	84 (81 - 85)	84 (82 - 85)	0,592
LY-SFL (Ch)	70 (68 - 73)	69 (66 - 71)	0,083
<i>Marcadores de inflamação</i>			
RNL	9,4 (6,2 - 14,7)	13,6 (8,3 - 22,8)	0,021*
RPL	277 (181 - 359)	262 (180 - 410)	0,815
RLM	2,0 (1,4 - 3,0)	2,0 (1,3 - 3,0)	0,591
PCR (mg/dL)	7,8 (5,3 - 21,5)	20,0 (7,1 - 28,5)	0,006*

Mediana e intervalo interquartil. VCM, Volume Corpuscular Médio. HCM, Hemoglobina Corpuscular Médio. CHCM, Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média. RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SFL, atividade metabólica. LY-SSC, irregularidade do núcleo linfocitário, granulação citoplasmática e/ou vacuolização. FY-SFL, atividade metabólica dos linfócitos e/ou permeabilidade da membrana celular. Ch, *channels*. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. RPL, relação Plaquetas/Linfócito. RLM, Relação, Linfócito/Monócito. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. PCR, proteína C reativa. *diferença estatística entre os grupos, $p < 0,05$.

Fonte: os autores.

Tabela 4- Parâmetros laboratoriais em até 24 horas antecedendo o desfecho final dos pacientes com COVID-19

	Desfecho final		
	Sobreviventes (n=102)	Não Sobreviventes (n=38)	Valor de p
<i>Parâmetros do hemograma</i>			
Eritrócitos (M/ μ L)	4,60 (4,00 – 5,02)	3,28 (2,80 – 3,71)	<0,0001*
Hemoglobina (g/dL)	13,4 (11,6 – 14,8)	9,2 (8,2 – 10,5)	<0,0001*
Hematócrito (%)	39,2 (33,8 – 42,7)	30,1 (25,6 – 33,1)	<0,0001*
VCM (fL)	85,7 (82,9 – 89,1)	91,2 (86,3 – 95,1)	<0,0001*
HCM (pg)	29,6 (28,4 – 30,4)	29,5 (27,8 – 31,1)	0,886
CHCM (%)	34,1 (33,6 – 34,9)	32,4 (30,8 – 33,7)	<0,0001*
RDW-CV (%)	13,1 (12,3 – 13,9)	16,0 (14,7 – 16,4)	<0,0001*
Leucócitos (células/ μ L)	9.045 (6.500 – 11.310)	14.590 (10.570 – 25.770)	<0,0001*
Neutrófilos (células/ μ L)	6.343 (4.488 – 8.433)	12.614 (9.362 – 22.420)	<0,0001*
Linfócitos (células/ μ L)	1.681 (1.163 – 2.314)	751 (545 – 1.427)	<0,0001*
Monócitos (células/ μ L)	666 (469 – 874)	541 (298 – 1.128)	0,422
Plaquetas (10^3 células/ μ L)	269 (217 – 360)	167 (116 – 248)	<0,0001*
<i>Parâmetros hemocitométricos</i>			
NE-SSC (Ch)	154 (150 – 159)	156 (152 – 161)	0,048*
NE-SFL (Ch)	49 (47 – 51)	56 (52 – 60)	<0,0001*
LY-SSC (Ch)	83 (81 – 85)	84 (82 – 86)	0,033*
LY-SFL (Ch)	72 (69 – 74)	69 (61 – 74)	0,220
<i>Marcadores de inflamação</i>			
RNL	3,7 (2,5 – 5,7)	14,4 (8,3 – 31,7)	<0,0001*
RPL	156 (123 – 230)	202 (122 – 432)	0,113
RLM	2,6 (1,9 – 3,5)	1,6 (0,8 – 3,0)	0,001*

Mediana e intervalo interquartil. VCM, Volume Corpuscular Médio. HCM, Hemoglobina Corpuscular Médio. CHCM, Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média. RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SFL, atividade metabólica. LY-SSC, irregularidade do núcleo linfocitário, granulação citoplasmática e/ou vacuolização. FY-SFL, atividade metabólica dos linfócitos e/ou permeabilidade da membrana celular. Ch, *channels*. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. RPL, relação Plaquetas/Linfócito. RLM, Relação, Linfócito/Monócito. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. *diferença estatística entre os grupos, $p < 0,05$.

Fonte: os autores.

Com base nos resultados anteriores, foi realizada a análise de regressão logística para investigar o valor prognóstico de mortalidade dos parâmetros avaliados na admissão hospitalar em pacientes com COVID-19 (Tabela 5). Os resultados demonstraram que a idade, a presença de comorbidades e o comprometimento pulmonar superior a 50% podem ser considerados como fatores de risco (Tabela 5). Assim como, os parâmetros laboratoriais RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR podem ser utilizados para predizer o prognóstico de pacientes com COVID-19. No entanto, o CHCM (OR= 0,688; IC95% 0,529 a 0,895; p= 0,005) e contagem absoluta de neutrófilos (OR=1,000; IC95% 0,999 a 1,001; p=0,010) não foram considerados como fatores de risco (Tabela 5).

Tabela 5- Análise de regressão logística univariada dos fatores de risco para predizer o prognóstico de pacientes com COVID-19

Parâmetros	OR	IC 95%	Valor de p
Idade	1,053	1,027 a 1,081	<0,001
Comorbidades	2,416	1,130 a 5,165	0,023
Comprometimento pulmonar >50%	2,496	1,118 a 5,573	0,026
CHCM (%)	0,688	0,529 a 0,895	0,005
RDW-CV (%)	1,229	1,043 a 1,448	0,014
Neutrófilos (células/ μ L)	1,000	0,999 a 1,001	0,010
NE-SSC (Ch)	1,081	1,002 a 1,165	0,044
RNL	1,063	1,017 a 1,109	0,006
PCR (mg/dL)	1,057	1,021 a 1,094	0,002

CHCM, Concentração Hemoglobínica Corpuscular Média. RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. Ch, *channels*. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. PCR, proteína C reativa. OR, *Odds Ratio* (Razão de chances). IC, Intervalo de Confiança. Fonte: os autores.

Para examinar o valor clínico dos parâmetros laboratoriais na admissão em prever o prognóstico de pacientes com COVID-19 curvas ROC foram construídas (Figura 3). A Tabela 6 demonstra os resultados da área sob a curva ROC (AUC), o ponto de corte para os parâmetros avaliados no dia da admissão para prever a mortalidade, a sensibilidade, a especificidade e a razão de verossimilhança positiva e negativa. Os parâmetros RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR apresentaram AUC significativa, superior a 0,5 (p=0,008, p=0,007, p=0,020 e p=0,006; respectivamente).

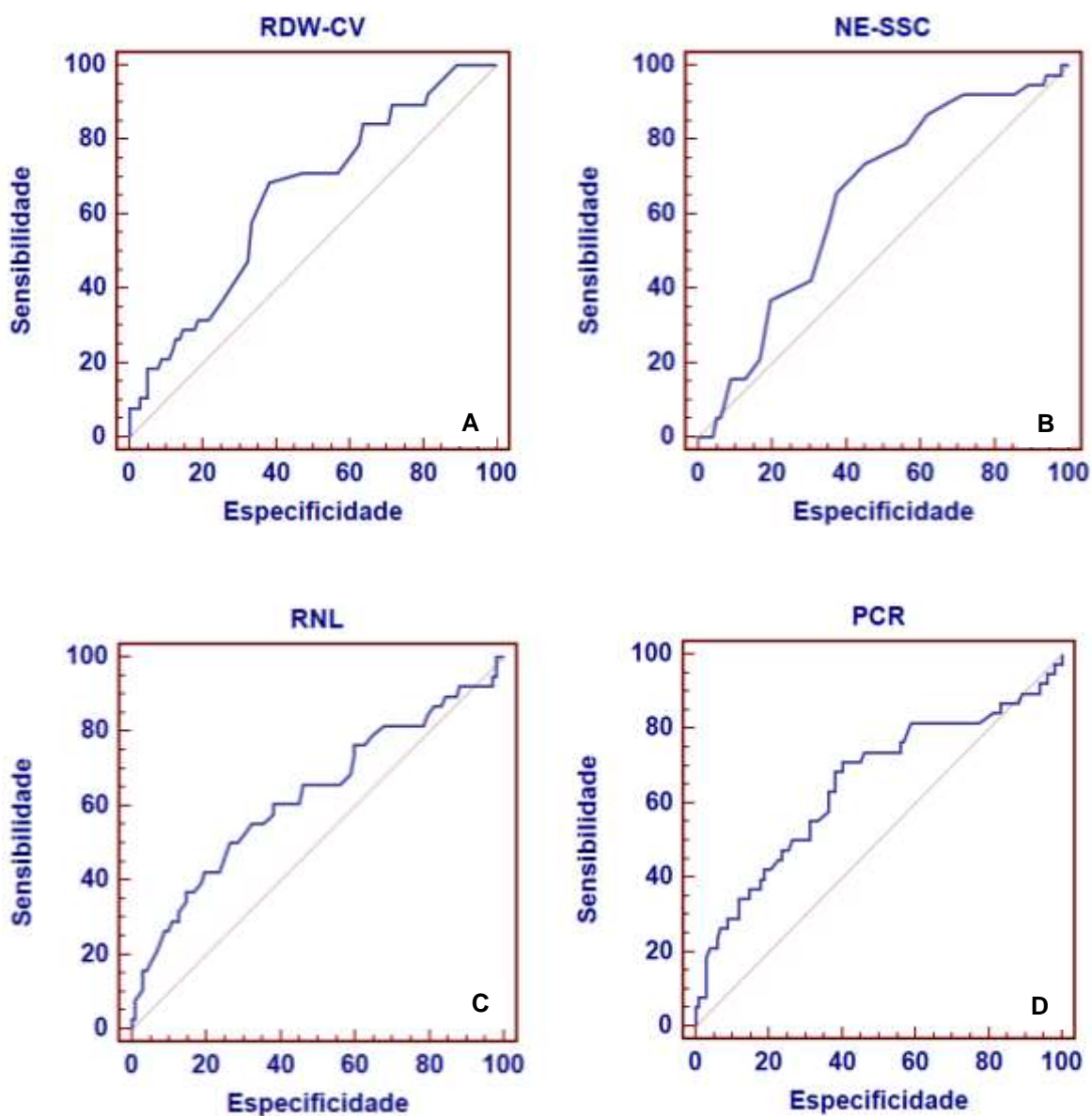
Tabela 6- Resultados da curva ROC

Parâmetros	Ponto de corte	AUC (IC 95%)	Sensibilidade (IC 95%)	Especificidade (IC 95%)	RVP	RVN
RDW-CV (%)	13,2	0,646 (0,560 a 0,725)	68,4 (51,3 a 82,5)	61,8 (51,6 a 71,2)	1,79	0,51
NE-SSC (Ch)	153	0,645 (0,561 a 0,866)	73,7 (56,9 a 86,6)	54,9 (44,7 a 64,8)	1,63	0,48
RNL	14,0	0,627 (0,542 a 0,707)	50,0 (33,4 a 66,6)	73,5 (63,9 a 81,8)	1,89	0,68
PCR (mg/dL)	13,9	0,651 (0,566 a 0,729)	71,1 (54,1 a 84,6)	59,8 (49,6 a 69,4)	1,77	0,48

RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. Ch, *channels*. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. PCR, proteína C reativa. AUC, área sob a curva. IC, Intervalo de Confiança. RVP, razão de verossimilhança positiva. RVN, razão de verossimilhança negativa.

Fonte: os autores.

Figura 3- Curvas ROC para RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR na admissão dos pacientes com COVID-19



Nota: (A) RDW-CV, AUC=0,646 (IC 95% 0,560 a 0,725), $p=0,008$, ponto de corte $>13,2\%$. (B) NE-SSC, AUC=0,645 (IC 95% 0,561 a 0,725), $p=0,007$, ponto de corte >153 Ch. (C) RNL, AUC=0,627 (IC 95% 0,542 a 0,707), $p=0,020$, ponto de corte de $>14,0$. (D) PCR, AUC=0,651 (IC 95% 0,566 a 0,729), $p=0,006$, ponto de corte de $>13,9\%$. ROC, *receiver operating characteristic*. AUC, área sob a curva. RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. PCR, proteína C reativa.

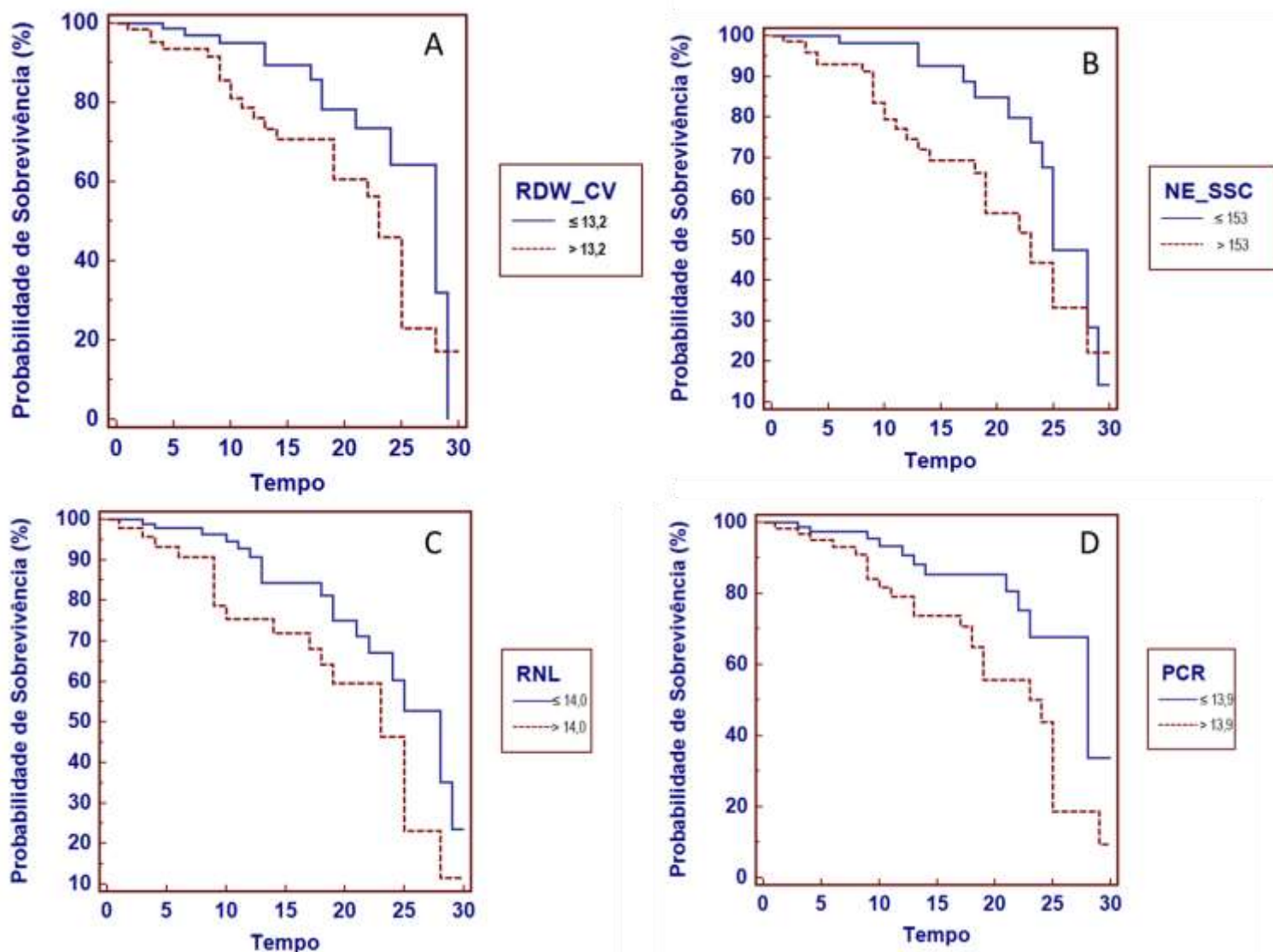
Fonte: os autores.

Para a análise de sobrevivência, Curvas de *Kaplan-Meier* foram construídas para avaliação em 30 dias. A sobrevivência foi significativamente maior nos pacientes com RDW-CV $\leq 13,2\%$ (83,1% sobreviventes) do que naqueles com RDW-CV $>13,2\%$ (60,3%

sobreviventes) (log rank: 4,1; $p=0,044$) (Figura 4 A). Assim como, para o parâmetro hemocitométrico, NE-SSC ≤ 153 (79,1% sobreviventes) com relação aos pacientes com valores superiores a 153 (67,1% sobreviveram) (log rank: 5,6; $p=0,018$) (Figura 4 B).

A sobrevivência também foi significativamente maior nos pacientes com RNL $\leq 14,0\%$ (79,8% sobreviventes) do que naqueles com RNL $>14,0\%$ (58,7% sobreviventes) (log rank: 4,3; $p=0,038$) (Figura 4 C). Pacientes com valores de PCR $\leq 13,9$ mg/dL apresentaram maior sobrevida (83,5% sobreviveram) que os pacientes com PCR $>13,9$ mg/dL (59,0% sobreviveram) (log rank: 7,1; $p=0,007$) (Figura 4 D).

Figura 4- Curvas de sobrevivência em 30 dias para os pacientes com COVID-19



Nota: (A) RDW-CV, Breslow: 5,5; $p=0,019$, Tarone-Ware: 5,5; $p=0,019$, Log rank: 4,1; $p=0,044$. (B) NE-SSC, Breslow: 9,6; $p=0,002$, Tarone-Ware: 8,9; $p=0,003$, Log rank: 5,6; $p=0,018$. (C) RNL, Breslow: 5,6; $p=0,018$, Tarone-Ware: 5,3; $p=0,022$, Log rank: 4,3; $p=0,038$. (D) PCR, Breslow: 5,4; $p=0,020$, Tarone-Ware: 6,6; $p=0,001$, Log rank: 7,1; $p=0,008$. RDW-CV, Red Cell Distribution Width - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. PCR, proteína C reativa. Fonte: os autores.

O modelo de riscos proporcionais (regressão de Cox) foi realizado para descrever os parâmetros associados ao risco relativo (HR, *Hazard Ratio*) da ocorrência de mortalidade em pacientes com COVID-19, em função do tempo de 30 dias. Os parâmetros significativos na análise univariada foram utilizados para o ajuste do HR para as outras covariáveis (independentemente da distribuição), fornecendo a análise multivariada do estudo.

Com base nos resultados da análise multivariada de Cox, a razão de risco estimada para mortalidade associados ao ponto de corte de RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR de forma isolada foram alterados pela adição de todos os parâmetros significativos para COVID-19. Apenas a idade pode ser usada como fator de risco independente para prever o prognóstico de pacientes com COVID-19 em 30 dias (Tabela 7).

Tabela 7- Análise univariada e multivariada de Cox para prever a mortalidade em 30 dias

Parâmetros	Univariada			Multivariada		
	HR	IC95%	Valor de p	HR	IC95%	Valor de p
Idade	1,044	1,021 a 1,069	<0,001	1,040	1,016 a 1,066	0,001
Comorbidades	1,648	0,862 a 3,151	0,131		NA	
Comprometimento pulmonar > 50%	1,154	0,592 a 2,248	0,675		NA	
RDW-CV $\leq 13,2$ vs $> 13,2$	1,910	1,007 a 3,623	0,048	1,080	0,510 a 2,287	0,840
NE-SSC ≤ 153 vs > 153	2,157	1,105 a 4,213	0,024	1,976	0,976 a 4,002	0,059
RNL $\leq 14,0$ vs $> 14,0$	1,910	1,007 a 3,623	0,048	1,807	0,901 a 3,626	0,096
PCR $\leq 13,9$ vs $> 13,9$	2,342	1,209 a 4,690	0,012	1,871	0,933 a 3,750	0,077

RDW-CV, *Red Cell Distribution Width* - Amplitude de Distribuição dos Eritrócitos. NE-SSC, reatividade dos neutrófilos. RNL, Relação Neutrófilo/Linfócito. PCR, proteína C reativa. HR, *Hazard Ratio* (Razão de risco). IC, Intervalo de Confiança. NA, Não avaliado.

Fonte: os autores.

6 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo demonstraram que os pacientes com desfecho desfavorável apresentaram maior faixa etária, presença de comorbidades e comprometimento pulmonar maior que 50%. O procedimento de intubação orotraqueal e as infecções secundárias durante o período de hospitalização ocorreram com maior frequência nos pacientes que não sobreviveram a COVID-19. Além disso, os pacientes que evoluíram a óbito permaneceram internados por um maior período em relação aos sobreviventes.

A profilaxia antimicrobiana foi extensa, entretanto não deve ser realizada de rotina, devendo ser considerada somente em pacientes com suspeita de infecção bacteriana associada. Contudo, deve ser destacado que 41 (29,3%) dos pacientes apresentaram infecções secundárias, sendo 18 (17,6%) sobreviventes e 23 (60,5%) não sobreviventes. Ainda que os antibióticos sejam ineficazes para o tratamento da COVID-19, eles são prescritos por vários motivos, como a dificuldade em descartar a coinfeção bacteriana no momento da admissão hospitalar, mas também a possibilidade de infecção bacteriana secundária durante o curso da doença (LANGFORD *et al.*, 2020)

Porém, entre as características demográficas e clínicas dos pacientes, as variáveis idade, presença de comorbidades e comprometimento pulmonar >50% foram caracterizadas como fatores de risco de morte para COVID-19. Sabe-se que umas das principais causas de morte em pacientes graves com COVID-19 é a SDRA devido ao comprometimento pulmonar (KRYNYTSKA *et al.*, 2021).

A idade mediana dos indivíduos com curso grave da doença e que não sobreviveram foi de 64 anos. Em um estudo de coorte retrospectivo de 1.591 pacientes gravemente enfermos com COVID-19, a idade média foi de 63 anos. No mesmo estudo, 78% dos pacientes apresentavam pelo menos uma comorbidade, sendo a hipertensão arterial a mais comum (GRASSELLI *et al.*, 2020). No presente estudo verificou-se que nos pacientes não sobreviventes, a presença de comorbidades como doença cardiovascular, diabetes mellitus e hipertensão arterial sistêmica era maior do que nos pacientes sobreviventes, sendo também a hipertensão arterial a mais frequente.

O envelhecimento é um processo natural e está associado à diminuição da competência imunológica, o que contribui para os resultados encontrados (GORONZY *et al.*, 2015). Além disso, a presença de comorbidade prejudica o sistema imune inato do hospedeiro, favorecendo o estado pró-inflamatório (BADAWI; RYOO, 2016). Portanto, esses

achados demonstram que o envelhecimento e presença de comorbidades são fatores importantes que podem afetar a gravidade e prognóstico da COVID-19.

No entanto, no presente estudo os resultados demonstraram que apenas a idade (HR=1,040; p=0,001) pode ser usada como fator de risco independente para prever o prognóstico de pacientes com COVID-19 em 30 dias. O estudo de Zhang, S. *et al.* (2020) demonstrou que em pacientes hospitalizados com COVID-19, a idade avançada é um preditor independente de mortalidade em 28 dias (HR=1,05; p<0,001).

Com relação aos parâmetros laboratoriais na admissão hospitalar, foi constatado diminuição da CHCM e aumento do RDW-CV, contagem absoluta de neutrófilos, NE-SSC, RNL e PCR para os pacientes não sobreviventes a COVID-19. Além disso, na avaliação prognóstica dos parâmetros na admissão hospitalar apenas os resultados de RDW-CV, NE-SSC, RNL e PCR foram considerados fatores de risco. Vale ressaltar que o CHCM é um índice hematimétrico que deve ser avaliado na prática clínica no contexto do hemograma. A contagem absoluta de neutrófilo apresentou OR=1,000, portanto não foi considerada um fator de risco. Porém, no estudo de Liu, Yuwei *et al.* (2020), a contagem absoluta de neutrófilos foi positivamente associada com o risco de morte intra-hospitalar (OR= 1,34; IC 95% IC 1,19-1,50; p< 0,001).

O RDW-CV é um parâmetro que indica a variação do tamanho das hemácias (KILERCIK *et al.*, 2021). Além disso, tem seu valor aumentado conforme a idade (HOFFMANN, J.; NABBE, 2015). Isso pode explicar a relação entre os pacientes que não sobreviveram e tinham maior valor de RDW-CV e o fato dos pacientes que não sobreviveram possuírem idade mais avançada.

No atual estudo verificou-se que o RDW-CV (OR=1,229; p=0,014) tem valor prognóstico na admissão hospitalar de pacientes com COVID-19. A AUC para o RDW-CV foi de 0,646, com ponto de corte de 13,2% para previsão de mortalidade no dia da admissão hospitalar. Nossos resultados são semelhantes com o estudo de Lorente *et al.* (2021), onde a AUC de RDW-CV para previsão de mortalidade foi de 0,710, com ponto de corte de 13,0%. O mesmo estudo, analisou a sobrevida em 30 dias utilizando RDW-CV inferior e superior a 13,0% e constatou que pacientes com RDW-CV superior 13,0% tiveram maior risco de mortalidade em 30 dias do que pacientes com menor RDW-CV (HR=5,1; IC 95% 2,3-11,4; p=0,03).

Em nosso estudo a sobrevida também foi avaliada em 30 dias e a sobrevivência foi significativamente maior nos pacientes com RDW-CV menor ou igual a 13,2% (83,1% sobreviventes) do que naqueles com RDW-CV superior a 13,2% (60,3% sobreviventes).

Além disso, pacientes com RDW-CV superior a 13,2% tiveram maior risco de mortalidade em 30 dias do que pacientes com menor RDW-CV (HR=1,9; IC 95% 1,0-3,6; p=0,048). Deve ser destacado que na análise multivariada a razão de risco estimada para mortalidade associada aos níveis de RDW-CV foi alterada pela adição dos parâmetros significativos para COVID-19, como por exemplo a idade.

Esses achados permitem dizer que o RDW-CV, um parâmetro laboratorial que é fornecido automaticamente em um hemograma convencional, pode ser utilizado em algoritmos para estimar a probabilidade de morte em pacientes com COVID-19. Acredita-se que o aumento do RDW-CV em pacientes com COVID-19 pode ser devido ao aumento do processo de renovação dos eritrócitos, resultante do estado pró-inflamatório que altera tanto a estrutura quanto a função dos eritrócitos; presença de citocinas como IL-1 e TNF- α que podem reduzir a produção de eritropoetina (EPO), bem como a resposta do progenitor eritroide à EPO e IFN- γ que contribui para a apoptose dos progenitores eritroides e reduz a expressão do receptor de EPO; e por fim, os eritrócitos funcionam como reservatórios de citocinas e o rompimento dessas células resulta em liberação de seu conteúdo interno (GONG *et al.*, 2020).

Estudos anteriores demonstraram que a RNL pode ser utilizada para prever o prognóstico da COVID-19 (QIN *et al.*, 2020; YANG, Ai-Ping *et al.*, 2020). No estudo de Yang, Ai-Ping *et al.* (2020) os pacientes em estado grave exibiram maior RNL quando comparados com os indivíduos em estado não grave (20,7 vs 4,8; p<0,001), AUC para o RNL foi de 0,841, com ponto de corte de 3,3 para prognóstico de gravidade, sendo considerado como fator de risco independente para desfecho clínico desfavorável da COVID-19 (HR=2,99; p=0,019). Qin *et al.* (2020) compararam os resultados laboratoriais obtidos na admissão de casos graves e não graves de COVID-19 e verificaram que os casos graves tinham maior RNL (5,5 vs 3,2; p<0,001).

Essas descobertas são consistentes com os resultados obtidos na admissão de pacientes (sobreviventes vs não sobreviventes) do nosso estudo: RNL (9,4 vs 13,6; p=0,021). Além disso, a RNL (OR=1,063; p=0,006) tem valor prognóstico na admissão hospitalar de pacientes com COVID-19. A AUC para a RNL foi de 0,627, com ponto de corte de 14,0% para previsão de mortalidade no dia da admissão hospitalar. A partir do ponto de corte, a análise da sobrevida demonstrou que a sobrevivência foi significativamente maior nos pacientes com RNL \leq 14,0% (79,8% sobreviventes) do que naqueles com RNL >14,0% (58,7% sobreviventes).

Sugere-se que em casos graves da doença, ocorra a mudança de leucócitos para neutrófilos ao invés de linfócitos e, possivelmente, a RNL pode ser uma ferramenta para auxiliar o médico no tratamento clínico de pacientes (POURBAGHERI-SIGAROODI *et al.*, 2020). O aumento da contagem de neutrófilos reflete a intensidade da resposta inflamatória, enquanto que a redução da contagem de linfócitos sugere comprometimento do sistema imunológico (LIU, J. *et al.*, 2020). Porém, em nosso estudo a contagem absoluta de neutrófilos isolada não foi considerada um marcador prognóstico de mortalidade significativo (OR=1,000), o que demonstra a importância da avaliação e inserção da RNL na prática clínica.

A PCR é um marcador inflamatório inespecífico que tem capacidade de se ligar e marcar células isquêmicas para serem eliminadas (SHERIFF *et al.*, 2015). Além disso, sugere-se que a própria PCR tem participação no dano irreversível do tecido isquêmico (SADEGHI-HADDAD-ZAVAREH *et al.*, 2021). Portanto, níveis crescentes de PCR podem sinalizar para deterioração pulmonar e progressão da doença (SHERIFF *et al.*, 2021).

No estudo de Guan *et al.* (2020) a gravidade dos casos de COVID-19 foram associados à PCR elevada (81,5% casos graves vs 65,4% não graves; $p < 0,001$), assim como o desfecho primário: admissão na UTI, uso de ventilação mecânica ou morte (91,1% vs 58,8%; $p < 0,001$). Deng *et al.* (2020) compararam as características clínicas dos casos fatais de COVID-19 com os casos recuperados e verificaram que na admissão, os pacientes do grupo fatal apresentaram nível de PCR significativamente mais alto (mediana 10,9 mg/dL; IQR 3,5-17,0 mg/dL vs mediana 0,3 mg/dL; IQR 0,1-2,1 mg/dL; $p < 0,001$).

Em nosso estudo, a comparação do grupo de sobreviventes e não sobreviventes (mediana 7,8 mg/dL; IQR 5,3-21,5 mg/dL vs mediana 20,0 mg/dL; IQR 7,1-28,5 mg/dL; $p = 0,006$) na admissão hospitalar também foi significativa, pois foi verificado um aumento da dosagem de PCR dos pacientes que evoluíram a óbito.

O estudo de Shang *et al.* (2020) mostrou que a PCR no grupo grave foi significativamente maior do que no grupo não grave (43,15 vs 10,05 mg/L; $p < 0,001$), e a PCR foi um fator de risco independente para COVID-19 grave (OR=1,017; $p = 0,012$), a AUC foi de 0,734 com ponto de corte 38,55 mg/L. Em nosso estudo, a PCR foi considerada um fator de risco para mortalidade (OR=1,057; $p = 0,002$), a curva ROC foi construída para examinar o valor clínico da PCR na admissão em prever o prognóstico de pacientes com COVID-19 (AUC 0,651; ponto de corte >13,9 mg/dL). Além disso, a análise da sobrevivência nos pacientes com PCR >13,9 mg/dL demonstrou que a sobrevida era menor (59,0%

sobreviveram) em comparação com os resultados de PCR $\leq 13,9$ mg/dL (83,5% sobreviveram) na admissão hospitalar.

Dentre os parâmetros hemocitométricos avaliado no estudo, na admissão hospitalar apenas o NE-SSC, que avalia a estrutura interna/granularidade dos neutrófilos por meio da dispersão de luz lateral, apresentou aumento para os pacientes não sobreviventes (153 vs 156 Ch; $p=0,008$). Zini *et al.* (2020) avaliaram esfregaços sanguíneos de pacientes com COVID-19 e verificaram a presença de anormalidades morfológicas marcantes da linhagem de neutrófilos, especialmente em relação à granulação nuclear e citoplasmática. A reação granulocítica pronunciada com imaturidade, dimorfismo e morfologia apoptótica foram evidenciadas no início do agravamento dos sintomas, ou seja, na admissão hospitalar (ZINI *et al.*, 2020).

Podemos supor que em nosso estudo, o aumento do NE-SSC em indivíduos com COVID-19 está relacionado com a presença dessas granulocidades. Essas anormalidades remetem à granulopoiese acelerada e desordenada da mieloperoxidase, que pode estar associada à tempestade de citocinas e estado inflamatório exacerbado em pacientes com COVID-19 em fase sintomática grave (HAZELDINE; LORD, 2021). Portanto, esses dados podem refletir sobre a resposta antiviral e o estado inflamatório dos pacientes.

A partir das análises realizadas em nosso estudo, o ponto de corte na admissão hospitalar para avaliar o prognóstico de mortalidade dos pacientes com COVID-19 para o NE-SSC foi de 153 Ch. Além disso, os resultados da análise de sobrevivência demonstram que para o parâmetro hemocitométricos NE-SSC ≤ 153 a sobrevida era maior (79,1% sobreviventes) em relação aos pacientes com valores superiores a 153 (67,1% sobreviveram). Esses resultados podem ser utilizados em estudos futuros para comparação e exploração na prática clínica.

Com relação aos resultados laboratoriais antecedendo 24 horas ao desfecho final as alterações foram mais expressivas e os pacientes que não sobreviveram a COVID-19 apresentaram anemia, com diminuição de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito e CHCM, assim como aumento do VCM e RDW-CV. Na série leucocitária houve aumento da contagem de leucócitos totais, contagem absoluta de neutrófilos e diminuição da contagem absoluta de linfócitos, além disso, verificou-se diminuição do número de plaquetas no sangue periférico.

Para os parâmetros hemocitométricos, houve aumento do NE-SSC, NE-SFL e LY-SSC. Os parâmetros inflamatórios exibiram aumento da RNL e redução da RLM. Portanto, observou-se que os parâmetros CHCM, RDW-CV, contagem absoluta de neutrófilos, NE-

SSC e RNL demonstraram alteração previamente ao desfecho final, no momento da admissão hospitalar. Deve ser lembrado que não foi possível a obtenção da PCR no desfecho final dos pacientes avaliados no estudo.

Acerca dos parâmetros da série vermelha do hemograma completo, Elderderery *et al.* (2022) avaliaram a associação entre COVID-19 e os parâmetros de hemograma de 384 pacientes positivos vs negativos e verificaram uma redução significativa nos parâmetros de pacientes positivos: hemoglobina (11,00 vs 12,30 g/dL), eritrócitos (4,20 vs 4,49 M/ μ L), hematócrito (34,40 vs 37,80 %), HCM (27,60 vs 27,90 fL); CHCM (32,20 vs 32,50 %) e um aumento no RDW (15,30 vs 14,90 %). Esses resultados estão de acordo com nosso estudo antecedendo 24 horas ao desfecho final e uma explicação plausível para essa redução de eritrócitos seria a inibição da hematopoese.

As células sanguíneas são originadas a partir de uma célula progenitora na medula óssea por meio de um processo chamado hematopoese (CHAPMAN; ZHANG, 2022). Esse processo é controlado a fim de garantir uma produção equilibrada de hemácias, leucócitos e plaquetas e manter as células tronco-hematopoiéticas autorrenováveis, porém em condições de estresse, como por exemplo em processos inflamatórios, a medula óssea perde esse equilíbrio (PASCUTTI; ERKELENS; NOLTE, 2016).

Com relação a série leucocitária, a neutrofilia observada nos casos de COVID-19 tem relação com o próprio processo inflamatório da patogênese da doença e da presença de infecções secundárias, principalmente bacteriana, visto que sistema imunológico destes pacientes se encontra comprometido (KILERCİK *et al.*, 2021). Além disso, os neutrófilos são fontes de quimiocinas e citocinas e na tentativa de combater a infecção viral, também contribui para a geração de tempestade de citocinas, que pode levar à SDRA, uma das principais causas de morte em indivíduos com COVID-19 (WU, C. *et al.*, 2020).

A linfopenia, definida por contagem $< 1.000/\mu$ L é o achado mais comum no hemograma de pacientes com COVID-19 (ZHANG, J. *et al.*, 2021). Algumas causas apontadas para a linfopenia incluem a invasão viral devido ao fato dos linfócitos possuírem expressão dos receptores ECA 2, hematopoese deficiente e apoptose como resposta ao estado hiperinflamatório (WANG, F. *et al.*, 2020; XU, Z. *et al.*, 2020; YAO *et al.*, 2020).

A trombocitopenia é um achado comum em hemograma de pacientes com COVID-19 e está relacionada com risco elevado de mortalidade (LIU, Yanli *et al.*, 2020). No estudo de Tang *et al.* (2020) a contagem de plaquetas estava significativamente reduzida em pacientes não sobreviventes em comparação com os sobreviventes (178 vs 231 x 10^9 /L; p

<0,001). Em nosso estudo, a contagem de plaquetas também foi significativamente menor nos pacientes que não sobreviveram (167 vs 269 x10³ células/μL; p <0,0001).

As plaquetas possuem papel especial na hemostasia, porém também participam do processo inflamatório e imunológico (HOTTZ; BOZZA; BOZZA, 2018). Alguns mecanismos propostos que explicam essa redução de plaquetas incluem medula óssea e megacariócitos suprimidos por citocinas inflamatórias, invasão viral direta e destruição de progenitores na medula óssea (YANG, X. *et al.*, 2020).

Com relação aos parâmetros hemocitométricos avaliados no estudo, verificamos também aumento dos parâmetros NE-SFL (49 vs 56 Ch; p<0,0001) e LY-SSC (83 vs 84 Ch; p=0,033) 24 horas antecedendo o desfecho final para os pacientes não sobreviventes com relação aos pacientes que receberam alta hospitalar. Nosso achado está de acordo com o estudo de Martens *et al.* (2021), que encontraram um sinal de fluorescência aumentado para NE-SFL nos neutrófilos de pacientes positivos para COVID-19 em comparação com casos negativos. Esses resultados indicam que há uma maior captação de corante fluorescente devido ao aumento da permeabilidade da membrana dessas células. Além disso, sugere-se que os neutrófilos se encontram ativados e operantes na tentativa de combater a infecção (MARTENS *et al.*, 2021).

Outro estudo que avaliou na admissão hospitalar o NE-SFL, encontrou um aumento desse parâmetro em pacientes do grupo crítico comparado ao não crítico (50,6 vs 50,0 FI, p=0,0023) (LINSSEN *et al.*, 2020). O mesmo estudo sugeriu que os parâmetros que refletem a ativação ou o estado funcional das células sanguíneas são melhores indicadores de gravidade da doença do que os parâmetros tradicionais (LINSSEN *et al.*, 2020).

Em nosso estudo, o NE-SFL não foi relacionado como fator de risco para prever a mortalidade na admissão hospitalar. Porém, no estudo de Li, Yang *et al.* (2019), NE-SFL foi considerado um preditor independente para prever a necessidade de ventilação mecânica (OR= 1,22; p< 0,001), com valor de corte ideal de 52 FI (AUC = 0,670) e a mortalidade (OR= 1,14; p= 0,004), com valor de corte de 52 FI (AUC = 0,640).

Outro estudo desenvolveu e validou um escore laboratorial baseado em parâmetros hematológicos para prever a sobrevida em pacientes hospitalizados com COVID-19 e verificou que nos indivíduos não sobreviventes o LY-SSC era aumentado em relação aos sobreviventes (83,15 Ch, IQR 81,55-84,11 vs 82,00 Ch, IQR 80,50-83,30; p= 0,001) (BIRINDELLI *et al.*, 2020). Esses resultados estão de acordo com os resultados de nosso estudo (83 vs 84 Ch; p=0,033).

Dentre as relações avaliadas no estudo, a RNL de pacientes que evoluíram a óbito também demonstrou aumento em 24 horas antecedendo o desfecho final (3,7 vs 14,4; $p < 0,0001$). Em um estudo de coorte retrospectivo, 548 pacientes com COVID-19 foram avaliados de acordo com o desfecho final (alta ou óbito) e demonstrou-se que a RNL (3,71 vs 13,45) aumentou significativamente (CHEN, R. *et al.*, 2020). Assim como em nosso estudo (156 vs 202, $p = 0,815$), Jimeno *et al.* (2021) não observaram diferença para RPL no desfecho final, alta ou óbito (RPL 193,3 vs 200,0; $p = 0,676$), e a relação não foi associada à mortalidade ou ao curso clínico grave da COVID-19. No estudo de Ertekin *et al.* (2021) a comparação da RLM entre sobreviventes e não sobreviventes (0,5 vs 1,86; $p < 0,001$) demonstrou-se contrária ao nosso estudo (2,6 vs 1,6; $p = 0,001$).

Uma possível explicação para os resultados encontrados em nosso estudo é que antecedendo 24 horas ao desfecho final, os pacientes que sobreviveram apresentaram contagem normal de linfócitos e os não sobreviventes exibiram linfopenia (1.681 vs 751/ μL ; $p < 0,0001$), enquanto a contagem de monócitos foi semelhante entre os dois grupos (666 vs 541/ μL ; $p = 0,422$). Portanto, essas relações podem ser utilizadas como marcadores do estado inflamatório e estão relacionadas com mau prognóstico da doença.

7 CONCLUSÃO

A partir das análises realizadas no presente estudo é possível concluir que entre os parâmetros hemocitométricos adicionais avaliados, apenas o NE-SSC demonstrou estar associado ao prognóstico de mortalidade e pode ser utilizado para avaliar a sobrevivência em 30 dias, com ponto de corte de 153 Ch. Além disso, os parâmetros RDW-CV, RNL e PCR também demonstraram estar associados ao prognóstico de mortalidade e podem ser utilizados para avaliar a sobrevivência em 30 dias, com ponto de corte estimado em 13,2%, 14 e 13,9 mg/dL, respectivamente. Porém, somente idade foi considerada fator de risco independente para mortalidade. Deve ser ressaltado que a idade avançada, comorbidades, comprometimento pulmonar >50% foram considerados fatores de risco para COVID-19.

A comparação dos resultados do hemograma antecedendo 24 horas ao desfecho final revelam piora nos resultados dos pacientes que não sobreviveram, o que está de acordo com o processo inflamatório exacerbado e resposta imune ineficiente, presente na patogênese da COVID-19. Além disso, esses resultados demonstraram que os parâmetros NE-SSC, RDW-CV e RNL permaneceram alterados até o desfecho final.

Diante do exposto, os resultados do presente estudo podem ser explorados em estudos futuros para o desenvolvimento de algoritmos de regras para predição clínica em pacientes com COVID-19.

REFERÊNCIAS

- ALEEM, A.; AKBAR SAMAD, A. B.; SLENKER, A. K. Emerging Variants of SARS-CoV-2 And Novel Therapeutics Against Coronavirus (COVID-19). **StatPearls Publishing**. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570580/>. Acesso em: 10 fev. 2022.
- ASAKURA, H.; OGAWA, H. COVID-19-associated coagulopathy and disseminated intravascular coagulation. **International Journal of Hematology**, v. 113, n. 1, p. 45–57, 2021.
- AZKUR, A. K.; AKDIS, M.; AZKUR, D.; SOKOLOWSKA, M.; VEEN, W.; BRÜGGEN, M.; O'MAHONY, L.; GAO, Y.; NADEAU, K.; AKDIS, C. A. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19. **Allergy**, v. 75, n. 7, p. 1564–1581, 2020.
- BADAWI, A.; RYOO, S. G. Prevalence of comorbidities in the Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV): a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 49, p. 129–133, 2016.
- BASTUG, A.; BODUR, H.; ERDOGAN, S.; GOKCINAR, D.; KAZANCIOGLU, S.; KOSOVALI, B. D.; OZBAY, B. O.; GOK, G.; TURAN, I. O.; YILMAZ, G.; GONEN, C. C.; YILMAZ, F. M. Clinical and laboratory features of COVID-19: Predictors of severe prognosis. **International Immunopharmacology**, v. 88, p. 106950, 2020.
- BIRINDELLI, S.; TARKOWSKI, M. S.; GALLUCCI, M.; SCHIUMA, M. **Development and validation of a laboratory score based on blood cell parameters to predict survival in hospitalized COVID-19 patients**. v. 09, n. 5, p. 7352–7363, 2020.
- BOURGONJE, A. R.; ABDULLE, A. E.; TIMENS, W.; HILLEBRANDS, J.; NAVIS, G. J.; GORDIJN, S. J.; BOLLING, M. C.; DIJKSTRA, G.; VOORS, A. A.; OSTERHAUS, A. D.; VOORT, P. H.; MULDER, D. J.; GOOR, H. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **The Journal of Pathology**, v. 251, n. 3, p. 228–248, 2020.
- CDC. **GESTÃO DE PACIENTES COM CONFIRMADO 2019-NCOV**. 2022. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/clinical-guidance-management-patients.html>. Acesso em: 12 abr. 2021.
- CHAPMAN, J.; ZHANG, Y. **Histology, Hematopoiesis**, StatPearls Publishing, 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534246/>. Acesso em: 15 mar. 2022.
- CHEN, H.-X.; CHEN, Z.-H.; SHEN, H.-H. [Structure of SARS-CoV-2 and treatment of COVID-19]. *Sheng li xue bao : Acta physiologica Sinica*, v. 72, n. 5, p. 617–630, 2020.
- CHEN, R.; SANG, L.; JIANG, M.; YANG, Z.; JIA, N.; FU, W.; XIE, J.; GUAN, W.; LIANG, W.; NI, Z.; HU, Y.; LIU, L.; SHAN, H.; LEI, C.; PENG, Y.; WEI, L.; LIU, Y.; HU, Y.; PENG, P.; ... ZHONG, N. Longitudinal hematologic and immunologic variations associated with the progression of COVID-19 patients in China. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 146, n. 1, p. 89–100, 2020.

CHEN, W.-H.; HOTEZ, P. J.; BOTTAZZI, M. E. Potential for developing a SARS-CoV receptor-binding domain (RBD) recombinant protein as a heterologous human vaccine against coronavirus infectious disease (COVID)-19. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 16, n. 6, p. 1239–1242, 2020.

CHU, D. K.; AKL, E. A.; DUDA, S.; SOLO, K.; YAACOUB, S.; SCHÜNEMANN, H. J.; CHU, D. K.; AKL, E. A.; EL-HARAKEH, A.; BOGNANNI, A.; LOTFI, T.; LOEB, M.; HAJIZADEH, A.; BAK, A.; IZCOVICH, A.; CUELLO-GARCIA, C. A.; CHEN, C.; HARRIS, D. J.; BOROWIACK, E.; ... SCHÜNEMANN, H. J. Physical distancing, face masks, and eye protection to prevent person-to-person transmission of SARS-CoV-2 and COVID-19: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet**, v. 395, n. 10242, p. 1973–1987, 2020.

CHUNG, M.; BERNHEIM, A.; MEI, X.; ZHANG, N.; HUANG, M.; ZENG, X.; CUI, J.; XU, W.; YANG, Y.; FAYAD, Z. A.; JACOBI, A.; LI, K.; LI, S.; SHAN, H. CT Imaging Features of 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV). **Radiology**, v. 295, n. 1, p. 202–207, 2020.

COPERCHINI, F.; CHIOVATO, L.; CROCE, L.; MAGRI, F.; ROTONDI, M. The cytokine storm in COVID-19: An overview of the involvement of the chemokine/chemokine-receptor system. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 53, p. 25–32, 2020.

COREY, L.; MASCOLA, J. R.; FAUCI, A. S.; COLLINS, F. S. A strategic approach to COVID-19 vaccine R&D. **Science**, v. 368, n. 6494, p. 948–950, 2020.

DENG, Y.; LIU, W.; LIU, K.; FANG, Y.-Y.; SHANG, J.; ZHOU, L.; WANG, K.; LENG, F.; WEI, S.; CHEN, L.; LIU, H.-G. Clinical characteristics of fatal and recovered cases of coronavirus disease 2019 in Wuhan, China: a retrospective study. **Chinese Medical Journal**, v. 133, n. 11, p. 1261–1267, 2020.

DENNISON, D.; AL KHABORI, M.; AL MAMARI, S.; AURELIO, A.; AL HINAI, H.; AL MAAMARI, K.; ALSHEKAILI, J.; AL KHADOURI, G. Circulating activated neutrophils in COVID-19: An independent predictor for mechanical ventilation and death. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 106, p. 155–159, 2021.

DUBEY, S.; BISWAS, P.; GHOSH, R.; CHATTERJEE, S.; DUBEY, M. J.; CHATTERJEE, S.; LAHIRI, D.; LAVIE, C. J. Psychosocial impact of COVID-19. Diabetes & Metabolic Syndrome: **Clinical Research & Reviews**, v. 14, n. 5, p. 779–788, 2020.

ELDERDERY, A. Y.; ELKHALIFA, A. M. E.; ALSRHANI, A.; ZAWBAEE, K. I.; ALSURAYEA, S. M.; ESCANDARANI, F. K.; ALHAMIDI, A. H.; IDRIS, H. M. E.; ABBAS, A. M.; SHALABI, M. G.; MILLS, J. Complete Blood Count Alterations of COVID-19 Patients in Riyadh, Kingdom of Saudi Arabia. **Journal of Nanomaterials**, v. 2022, p. 1–6, 2022.

ERTEKIN, B.; YORTANLI, M.; ÖZELBAYKAL, O.; DOĞRU, A.; GIRIŞGIN, A. S.; ACAR, T. The Relationship between Routine Blood Parameters and the Prognosis of COVID-19 Patients in the Emergency Department. **Emergency Medicine International**, v. 2021, p. 1–7, 2021.

FATHI, M.; VAKILI, K.; SAYEHMIRI, F.; MOHAMADKHANI, A.; HAJIESMAEILI, M.; REZAEI-TAVIRANI, M.; EILAMI, O. The prognostic value of comorbidity for the severity

of COVID-19: A systematic review and meta-analysis study. **PLOS ONE**, v. 16, n. 2, p. e0246190, 2021.

GANDHI, R. T.; LYNCH, J. B.; DEL RIO, C. Mild or Moderate Covid-19. **New England Journal of Medicine**, v. 383, n. 18, p. 1757–1766, 2020.

GARCÍA, L. F. Immune Response, Inflammation, and the Clinical Spectrum of COVID-19. **Frontiers in Immunology**, v. 11, 2020.

GAUTAM, S.; HENS, L. COVID-19: impact by and on the environment, health and economy. **Environment, Development and Sustainability**, v. 22, n. 6, p. 4953–4954, 2020.

GAVIN, W.; CAMPBELL, E.; ZAIDI, S.-A.; GAVIN, N.; DBEIBO, L.; BEELER, C.; KUEBLER, K.; ABDEL-RAHMAN, A.; LUETKEMEYER, M.; KARA, A. Clinical characteristics, outcomes and prognosticators in adult patients hospitalized with COVID-19. **American Journal of Infection Control**, v. 49, n. 2, p. 158–165, 2021.

GIACOMELLI, A.; PEZZATI, L.; CONTI, F.; BERNACCHIA, D.; SIANO, M.; ORENI, L.; RUSCONI, S.; GERVASONI, C.; RIDOLFO, A. L.; RIZZARDINI, G.; ANTINORI, S.; GALLI, M. Self-reported Olfactory and Taste Disorders in Patients With Severe Acute Respiratory Coronavirus 2 Infection: A Cross-sectional Study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 889–890, 2020.

GOLONKA, R. M.; SAHA, P.; YEOH, B. S.; CHATTOPADHYAY, S.; GEWIRTZ, A. T.; JOE, B.; VIJAY-KUMAR, M. Harnessing innate immunity to eliminate SARS-CoV-2 and ameliorate COVID-19 disease. **Physiological Genomics**, v. 52, n. 5, p. 217–221, 2020.

GONG, J.; OU, J.; QIU, X.; JIE, Y.; CHEN, Y.; YUAN, L.; CAO, J.; TAN, M.; XU, W.; ZHENG, F.; SHI, Y.; HU, B. A Tool for Early Prediction of Severe Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Multicenter Study Using the Risk Nomogram in Wuhan and Guangdong, China. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 833–840, 2020.

GORONZY, J. J.; FANG, F.; CAVANAGH, M. M.; QI, Q.; WEYAND, C. M. Naive T Cell Maintenance and Function in Human Aging. **The Journal of Immunology**, v. 194, n. 9, p. 4073–4080, 2015.

GRASSELLI, G.; ZANGRILLO, A.; ZANELLA, A.; ANTONELLI, M.; CABRINI, L.; CASTELLI, A.; CEREDA, D.; COLUCCELLO, A.; FOTI, G.; FUMAGALLI, R.; IOTTI, G.; LATRONICO, N.; LORINI, L.; MERLER, S.; NATALINI, G.; PIATTI, A.; RANIERI, M. V.; SCANDROGLIO, A. M.; STORTI, E.; ... ZOIA, E. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. **JAMA**, v. 323, n. 16, p. 1574, 2020.

GUAN, W.; NI, Z.; HU, Y.; LIANG, W.; OU, C.; HE, J.; LIU, L.; SHAN, H.; LEI, C.; HUI, D. S. C.; DU, B.; LI, L.; ZENG, G.; YUEN, K.-Y.; CHEN, R.; TANG, C.; WANG, T.; CHEN, P.; XIANG, J.; ... ZHONG, N. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 18, p. 1708–1720, 2020.

HARVEY, W. T.; CARABELLI, A. M.; JACKSON, B.; GUPTA, R. K.; THOMSON, E. C.; HARRISON, E. M.; LUDDEN, C.; REEVE, R.; RAMBAUT, A.; PEACOCK, S. J.; ROBERTSON, D. L. SARS-CoV-2 variants, spike mutations and immune escape. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 7, p. 409–424, 2021.

HAZELDINE, J.; LORD, J. M. Neutrophils and COVID-19: Active Participants and Rational Therapeutic Targets. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.

HENRY, B. M.; DE OLIVEIRA, M. H. S.; BENOIT, S.; PLEBANI, M.; LIPPI, G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1021–1028, 2020.

HOFFMANN, J. J. M. L.; NABBE, K. C. A. M.; VAN DEN BROEK, N. M. A. Effect of age and gender on reference intervals of red blood cell distribution width (RDW) and mean red cell volume (MCV). **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 53, n. 12, 2015.

HOFFMANN, M.; KLEINE-WEBER, H.; SCHROEDER, S.; KRÜGER, N.; HERRLER, T.; ERICHSEN, S.; SCHIERGENS, T. S.; HERRLER, G.; WU, N.-H.; NITSCHKE, A.; MÜLLER, M. A.; DROSTEN, C.; PÖHLMANN, S. 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, 2020.

HOTTZ, E. D.; BOZZA, F. A.; BOZZA, P. T. Platelets in Immune Response to Virus and Immunopathology of Viral Infections. **Frontiers in Medicine**, v. 5, 2018.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; REN, L.; ZHAO, J.; HU, Y.; ZHANG, L.; FAN, G.; XU, J.; GU, X.; CHENG, Z.; YU, T.; XIA, J.; WEI, Y.; WU, W.; XIE, X.; YIN, W.; LI, H.; LIU, M.; ... CAO, B. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020.

HUI, D. S.; I AZHAR, E.; MADANI, T. A.; NTOUMI, F.; KOCK, R.; DAR, O.; IPPOLITO, G.; MCHUGH, T. D.; MEMISH, Z. A.; DROSTEN, C.; ZUMLA, A.; PETERSEN, E. The continuing 2019-nCoV epidemic threat of novel coronaviruses to global health — The latest 2019 novel coronavirus outbreak in Wuhan, China. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 91, p. 264–266, 2020.

JIMENO, S.; VENTURA, P. S.; CASTELLANO, J. M.; GARCÍA-ADASME, S. I.; MIRANDA, M.; TOUZA, P.; LLLANA, I.; LÓPEZ-ESCOBAR, A. Prognostic implications of neutrophil-lymphocyte ratio in COVID-19. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 51, n. 1, 2021.

JIN, Y.-H.; CAI, L.; CHENG, Z.-S.; CHENG, H.; DENG, T.; FAN, Y.-P.; FANG, C.; HUANG, D.; HUANG, L.-Q.; HUANG, Q.; HAN, Y.; HU, B.; HU, F.; LI, B.-H.; LI, Y.-R.; LIANG, K.; LIN, L.-K.; LUO, L.-S.; MA, J.; ... WANG, X.-H. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). **Military Medical Research**, v. 7, n. 1, p. 4, 2020.

KARIMI SHAHRI, M.; NIAZKAR, H. R.; RAD, F. COVID-19 and hematology findings based on the current evidences: A puzzle with many missing pieces. **International Journal of Laboratory Hematology**, v. 43, n. 2, p. 160–168, 2021.

KASINATHAN, G.; SATHAR, J. Haematological manifestations, mechanisms of thrombosis and anti-coagulation in COVID-19 disease: A review. **Annals of Medicine and Surgery**, v. 56, p. 173–177, 2020.

KILERCİK, M.; DEMIRELCE, Ö.; SERDAR, M. A.; MIKAILOVA, P.; SERTESER, M. A. A new haematocytometric index: Predicting severity and mortality risk value in COVID-19 patients. **PLOS ONE**, v. 16, n. 8, p. e0254073, 2021.

KRYNYTSKA, I.; MARUSHCHAK, M.; BIRCHENKO, I.; DOVGALYUK, A.; TOKARSKYY, O. COVID-19-associated acute respiratory distress syndrome versus classical acute respiratory distress syndrome (a narrative review). **Iranian Journal of Microbiology**, v.13, n.6, p. 737-747, 2021.

LANGFORD, B. J.; SO, M.; RAYBARDHAN, S.; LEUNG, V.; WESTWOOD, D.; MACFADDEN, D. R.; SOUCY, J.-P. R.; DANEMAN, N. Bacterial co-infection and secondary infection in patients with COVID-19: a living rapid review and meta-analysis. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 26, n. 12, p. 1622–1629, 2020.

LEE, B.; ASHCROFT, T.; AGYEI-MANU, E.; DE LOS, E. F.; LEOW, A.; KRISHAN, P.; KULKARNI, D.; NUNDY, M.; HARTNUP, K.; SHI, T.; MCSWIGGAN, E.; NAIR, H.; THEODORATOU, E.; MCQUILLAN, R. Clinical features of COVID-19 for integration of COVID-19 into influenza surveillance: A systematic review. **Journal of Global Health**, v. 12, p. 05012, 2022.

LI, G.; FAN, Y.; LAI, Y.; HAN, T.; LI, Z.; ZHOU, P.; PAN, P.; WANG, W.; HU, D.; LIU, X.; ZHANG, Q.; WU, J. Coronavirus infections and immune responses. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 4, p. 424–432, 2020.

LI, Yang; WANG, W.; YANG, F.; XU, Y.; FENG, C.; ZHAO, Y. The regulatory roles of neutrophils in adaptive immunity. **Cell Communication and Signaling**, v. 17, n. 1, p. 147, 2019.

LI, Yanwei; ZHOU, W.; YANG, L.; YOU, R. Physiological and pathological regulation of ACE2, the SARS-CoV-2 receptor. **Pharmacological Research**, v. 157, p. 104833, 2020.

LINSEN, J.; ERMENS, A.; BERREVOETS, M.; SEGHEZZI, M.; PREVITALI, G.; VAN DER SAR-VAN DER BRUGGE, S.; RUSSCHER, H.; VERBON, A.; GILLIS, J.; RIEDL, J.; DE JONGH, E.; SAKER, J.; MÜNSTER, M.; MUNNIX, I. C.; DOFFERHOF, A.; SCHARNHORST, V.; AMMERLAAN, H.; DEITEREN, K.; BAKKER, S. J.; ... VAN DER VEN, A. J. A novel haemocytometric COVID-19 prognostic score developed and validated in an observational multicentre European hospital-based study. **eLife**, v. 9, 2020.

LIPPI, G.; PLEBANI, M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 58, n. 7, p. 1131–1134, 2020.

LIU, J.; LI, S.; LIU, J.; LIANG, B.; WANG, X.; WANG, H.; LI, W.; TONG, Q.; YI, J.; ZHAO, L.; XIONG, L.; GUO, C.; TIAN, J.; LUO, J.; YAO, J.; PANG, R.; SHEN, H.; PENG, C.; LIU, T.; ... ZHENG, X. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. **EBioMedicine**, v. 55, p. 102763, 2020.

LIU, W.; TAO, Z.-W.; WANG, L.; YUAN, M.-L.; LIU, K.; ZHOU, L.; WEI, S.; DENG, Y.; LIU, J.; LIU, H.-G.; YANG, M.; HU, Y. Analysis of factors associated with disease outcomes in hospitalized patients with 2019 novel coronavirus disease. **Chinese Medical Journal**, v. 133, n. 9, p. 1032–1038, 2020.

LIU, Yanli; SUN, W.; GUO, Y.; CHEN, L.; ZHANG, L.; ZHAO, S.; LONG, D.; YU, L. Association between platelet parameters and mortality in coronavirus disease 2019: Retrospective cohort study. **Platelets**, v. 31, n. 4, p. 490–496, 2020.

LIU, Yingxia; YANG, Y.; ZHANG, C.; HUANG, F.; WANG, F.; YUAN, J.; WANG, Z.; LI, J.; LI, J.; FENG, C.; ZHANG, Z.; WANG, L.; PENG, L.; CHEN, L.; QIN, Y.; ZHAO, D.; TAN, S.; YIN, L.; XU, J.; ... LIU, L. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. **Science China Life Sciences**, v. 63, n. 3, p. 364–374, 2020.

LIU, Yuwei; DU, X.; CHEN, J.; JIN, Y.; PENG, L.; WANG, H. H. X.; LUO, M.; CHEN, L.; ZHAO, Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratio as an independent risk factor for mortality in hospitalized patients with COVID-19. **Journal of Infection**, v. 81, n. 1, p. 6–12, 2020.

LORENTE, L.; MARTÍN, M. M.; ARGUESO, M.; SOLÉ-VIOLÁN, J.; PEREZ, A.; MARCOS Y RAMOS, J. A.; RAMOS-GÓMEZ, L.; LÓPEZ, S.; FRANCO, A.; GONZÁLEZ-RIVERO, A. F.; MARTÍN, M.; GONZALEZ, V.; ALCOBA-FLÓREZ, J.; RODRIGUEZ, M. Á.; RIAÑO-RUIZ, M.; GUILLERMO O CAMPO, J.; GONZÁLEZ, L.; CANTERA, T.; ORTIZ-LÓPEZ, R.; ... JIMÉNEZ, A. Association between red blood cell distribution width and mortality of COVID-19 patients. **Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine**, v. 40, n. 1, p. 100777, 2021.

MAJEED, A.; SHAJAR, M. A. Is hemoglobin the missing link in the pathogenesis of COVID-19? **Anaesthesia, Pain & Intensive Care**, v. 24, n. 1, p. 9–12, 2020.

MARIONNEAUX, S. Nonmalignant leukocyte disorders. *Rodak's Hematology*. **Elsevier**, v.45, p. 445–465, 2020.

MARTENS, R. J. H.; VAN ADRICHEM, A. J.; MATTHEIJ, N. J. A.; BROUWER, C. G.; VAN TWIST, D. J. L.; BROERSE, J. J. C. R.; MAGRO-CHECA, C.; VAN DONGEN, C. M. P.; MOSTARD, R. L. M.; RAMIRO, S.; LANDEWÉ, R. B. M.; LEERS, M. P. G. Hemocytometric characteristics of COVID-19 patients with and without cytokine storm syndrome on the sysmex XN-10 hematology analyzer. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**, v. 59, n. 4, p. 783–793, 2021.

MASON, R. J. Pathogenesis of COVID-19 from a cell biology perspective. **European Respiratory Journal**, v. 55, n. 4, p. 2000607, 2020.

MCKINNON, K. M. Flow Cytometry: An Overview. **Current Protocols in Immunology**, v. 120, n. 1, 2018.

MERAD, M.; SUBRAMANIAN, A.; WANG, T. T. An aberrant inflammatory response in severe COVID-19. **Cell Host & Microbe**, v. 29, n. 7, p. 1043–1047, 2021.

MEYEROWITZ, E. A.; RICHTERMAN, A.; GANDHI, R. T.; SAX, P. E. Transmission of SARS-CoV-2: A Review of Viral, Host, and Environmental Factors. **Annals of Internal Medicine**, v. 174, n. 1, p. 69–79, 2021.

MHASKE, S.; YUWANATI, M.; MHASKE, A.; DESAI, A.; SARODE, S. C.; SARODE, G. S. Perspective on oral exfoliative cytology and COVID-19. **Oral Oncology**, v. 107, p. 104858, 2020.

MOSQUERA-SULBARAN, J. A.; PEDREAÑEZ, A.; CARRERO, Y.; CALLEJAS, D. C-reactive protein as an effector molecule in Covid-19 pathogenesis. **Reviews in Medical Virology**, v. 31, n. 6, p.47-59, 2021.

MOUSAVIZADEH, L.; GHASEMI, S. Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 54, n. 2, p. 159–163, 2021.

NG, W. H.; TIPIH, T.; MAKOA, N. A.; VERMEULEN, J.-G.; GOEDHALS, D.; SEMPA, J. B.; BURT, F. J.; TAYLOR, A.; MAHALINGAM, S. Comorbidities in SARS-CoV-2 Patients: a Systematic Review and Meta-Analysis. **mBio**, v. 12, n. 1, 2021.

NI, W.; YANG, X.; YANG, D.; BAO, J.; LI, R.; XIAO, Y.; HOU, C.; WANG, H.; LIU, J.; YANG, D.; XU, Y.; CAO, Z.; GAO, Z. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 422, 2020.

ONG, S. W. X.; TAN, Y. K.; CHIA, P. Y.; LEE, T. H.; NG, O. T.; WONG, M. S. Y.; MARIMUTHU, K. Air, Surface Environmental, and Personal Protective Equipment Contamination by Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) From a Symptomatic Patient. **JAMA**, v. 323, n. 16, p. 1610, 2020.

PALLADINO, M. Complete blood count alterations in COVID-19 patients. **Biochemia medica**, v. 31, n. 3, p. 403–415, 2021.

PASCUTTI, M. F.; ERKELENS, M. N.; NOLTE, M. A. Impact of Viral Infections on Hematopoiesis: From Beneficial to Detrimental Effects on Bone Marrow Output. **Frontiers in Immunology**, v. 7, p. 300, 2016.

PONTI, G.; MACCAFERRI, M.; RUINI, C.; TOMASI, A.; OZBEN, T. Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, v. 57, n. 6, p. 389–399, 2020.

POURBAGHERI-SIGAROODI, A.; BASHASH, D.; FATEH, F.; ABOLGHASEMI, H. Laboratory findings in COVID-19 diagnosis and prognosis. **Clinica Chimica Acta**, v. 510, p. 475–482, 2020.

QIN, C.; ZHOU, L.; HU, Z.; ZHANG, S.; YANG, S.; TAO, Y.; XIE, C.; MA, K.; SHANG, K.; WANG, W.; TIAN, D.-S. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 762–768, 2020.

QU, R.; LING, Y.; ZHANG, Y.; WEI, L.; CHEN, X.; LI, X.; LIU, X.; LIU, H.; GUO, Z.; REN, H.; WANG, Q. Platelet-to-lymphocyte ratio is associated with prognosis in patients with coronavirus disease-19. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 9, p. 1533–1541, 2020.

SADEGHI-HADDAD-ZAVAREH, M.; BAYANI, M.; SHOKRI, M.; EBRAHIMPOUR, S.; BABAZADEH, A.; MEHRAEEN, R.; MOUDI, E.; ROSTAMI, A.; BARARY, M.; HOSSEINI, A.; BIJANI, A.; JAVANIAN, M. C-Reactive Protein as a Prognostic Indicator in COVID-19 Patients. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2021, p. 1–5, 2021.

SAXENA, R.; PATI, H. P. **Hematopathology**. India, 2019. Disponível em:

<https://doi.org/10.1007/978-981-13-7713-6>. Acesso em: 15 jan. 2022.

SEYED HOSSEINI, E.; RIAHI KASHANI, N.; NIKZAD, H.; AZADBAKHT, J.; HASSANI BAFRANI, H.; HADDAD KASHANI, H. The novel coronavirus Disease-2019 (COVID-19): Mechanism of action, detection and recent therapeutic strategies. **Virology**, v. 551, p. 1–9, 2020.

SEYIT, M.; AVCI, E.; NAR, R.; SENOL, H.; YILMAZ, A.; OZEN, M.; OSKAY, A.; AYBEK, H. Neutrophil to lymphocyte ratio, lymphocyte to monocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio to predict the severity of COVID-19. **The American Journal of Emergency Medicine**, v. 40, p. 110–114, 2021.

SHANG, W.; DONG, J.; REN, Y.; TIAN, M.; LI, W.; HU, J.; LI, Y. The value of clinical parameters in predicting the severity of COVID-19. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 10, p. 2188–2192, 2020.

SHERIFF, A.; KAYSER, S.; BRUNNER, P.; VOGT, B. C-Reactive Protein Triggers Cell Death in Ischemic Cells. **Frontiers in Immunology**, v. 12, 2021.

SHERIFF, A.; SCHINDLER, R.; VOGT, B.; ABDEL-ATY, H.; UNGER, J. K.; BOCK, C.; GEBAUER, F.; SLAGMAN, A.; JERICHOW, T.; MANS, D.; YAPICI, G.; JANELT, G.; SCHRÖDER, M.; KUNZE, R.; MÖCKEL, M. Selective apheresis of C-reactive protein: A new therapeutic option in myocardial infarction? **Journal of Clinical Apheresis**, v. 30, n. 1, p. 15–21, 2015.

SINGH, S. P.; PRITAM, M.; PANDEY, B.; YADAV, T. P. Microstructure, pathophysiology, and potential therapeutics of COVID-19: A comprehensive review. **Journal of Medical Virology**, v. 93, n.1, p. 275–299, 2021.

SPROSTON, N. R.; ASHWORTH, J. J. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. **Frontiers in Immunology**, v. 9, 2018.

SUBBARAO, K.; MAHANTY, S. Respiratory Virus Infections: Understanding COVID-19. **Immunity**, v. 52, n. 6, p. 905–909, 2020.

SUN, Q.; QIU, H.; HUANG, M.; YANG, Y. Lower mortality of COVID-19 by early recognition and intervention: experience from Jiangsu Province. **Annals of intensive care**, v. 10, n. 1, p. 33, 2020.

SYSMEX. **New Blood Cell Counting Technology in the VCUHS Hematology Laboratory**, 2017. Disponível em: <http://www.pathology.vcu.edu/media/pathology/clinical/hem/BloodCellCountingatVCUHS.pdf>.

SYSMEX. **XN series Research Use Only Appendix**, Kobe, Japan. 2019. .

TAN, C.; HUANG, Y.; SHI, F.; TAN, K.; MA, Q.; CHEN, Y.; JIANG, X.; LI, X. C-reactive protein correlates with computed tomographic findings and predicts severe COVID-19 early. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 7, p. 856–862, 2020.

TAN, L.; WANG, Q.; ZHANG, D.; DING, J.; HUANG, Q.; TANG, Y.-Q.; WANG, Q.; MIAO, H. Correction: Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive

and predictive study. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 5, n. 1, p. 61, 2020.

TANG, N.; BAI, H.; CHEN, X.; GONG, J.; LI, D.; SUN, Z. Anticoagulant treatment is associated with decreased mortality in severe coronavirus disease 2019 patients with coagulopathy. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 5, p. 1094–1099, 2020.

TAY, M. Z.; POH, C. M.; RÉNIA, L.; MACARY, P. A.; NG, L. F. P. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 6, p. 363–374, 2020.

TEUWEN, L.-A.; GELDHOF, V.; PASUT, A.; CARMELIET, P. Author Correction: COVID-19: the vasculature unleashed. **Nature Reviews Immunology**, v. 20, n. 7, p. 448–448, 2020.

TOOR, S. M.; SALEH, R.; SASIDHARAN NAIR, V.; TAHA, R. Z.; ELKORD, E. T-cell responses and therapies against SARS-CoV-2 infection. **Immunology**, v. 162, n. 1, p. 30–43, 2021.

TORTORICI, M. A.; VEESLER, D. **Structural insights into coronavirus entry**. v.1, p. 93–116, 2019.

UMAKANTHAN, S.; SAHU, P.; RANADE, A. V.; BUKELO, M. M.; RAO, J. S.; ABRAHAO-MACHADO, L. F.; DAHAL, S.; KUMAR, H.; KV, D. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Postgraduate medical journal**, v. 96, n. 1142, p. 753–758, 2020.

USTYANTSEVA, M.; KHOKHLOVA, O. I.; AGADZHANYAN, V. V. **Innovative Technologies in the Evaluation of the Neutrophil Functional Activity in Sepsis**. v. 29, n. 1, p. 652509, 2019.

V'KOVSKI, P.; KRATZEL, A.; STEINER, S.; STALDER, H.; THIEL, V. Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2. **Nature Reviews Microbiology**, v. 19, n. 3, p. 155–170, 2021.

WANG, F.; HOU, H.; LUO, Y.; TANG, G.; WU, S.; HUANG, M.; LIU, W.; ZHU, Y.; LIN, Q.; MAO, L.; FANG, M.; ZHANG, H.; SUN, Z. The laboratory tests and host immunity of COVID-19 patients with different severity of illness. **JCI Insight**, v. 5, n. 10, 2020.

WANG, J.; HAJIZADEH, N.; MOORE, E. E.; MCINTYRE, R. C.; MOORE, P. K.; VERESS, L. A.; YAFFE, M. B.; MOORE, H. B.; BARRETT, C. D. Tissue plasminogen activator (tPA) treatment for COVID-19 associated acute respiratory distress syndrome (ARDS): A case series. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 7, p. 1752–1755, 2020.

WANG, Z.; HE, Y.; SHU, H.; WANG, P.; XING, H.; ZENG, X.; TANG, Z. High-fluorescent lymphocytes are increased in patients with COVID-19. **British Journal of Haematology**, v. 190, n. 2, 2020.

WHO. **World Health Organization**. **2022a**. Disponível em: <https://www.paho.org/en/coronavirus-disease-covid-19>. Acesso em: 20 jan. 2022.

WHO. **World Health Organization**. **2022b**. Disponível em:

<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>. Acesso em: 20 jan. 2022.

WHO. **World Health Organization. 2022c.** Disponível em: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>. Acesso em: 7 fev. 2022.

WOOL, G. D.; MILLER, J. L. The Impact of COVID-19 Disease on Platelets and Coagulation. **Pathobiology**, v. 88, n. 1, p. 15–27, 2021.

WRAPP, D.; WANG, N.; CORBETT, K. S.; GOLDSMITH, J. A.; HSIEH, C.-L.; ABIONA, O.; GRAHAM, B. S.; MCLELLAN, J. S. Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. **Science**, v. 367, n. 6483, p. 1260–1263, 2020.

WU, C.; CHEN, X.; CAI, Y.; XIA, J.; ZHOU, X.; XU, S.; HUANG, H.; ZHANG, L.; ZHOU, X.; DU, C.; ZHANG, Y.; SONG, J.; WANG, S.; CHAO, Y.; YANG, Z.; XU, J.; ZHOU, X.; CHEN, D.; XIONG, W.; ... SONG, Y. Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China. **JAMA Internal Medicine**, v. 180, n. 7, p. 934, 2020.

WU, K.; WERNER, A. P.; MOLIVA, J. I.; KOCH, M.; CHOI, A.; STEWART-JONES, G. B. E.; BENNETT, H.; BOYOGLU-BARNUM, S.; SHI, W.; GRAHAM, B. S.; CARFI, A.; CORBETT, K. S.; SEDER, R. A.; EDWARDS, D. K. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. **bioRxiv: the preprint server for biology**, v.1, 2021.

XU, P.; ZHOU, Q.; XU, J. Mechanism of thrombocytopenia in COVID-19 patients. **Annals of Hematology**, v. 99, n. 6, p. 1205–1208, 2020.

XU, Z.; SHI, L.; WANG, Y.; ZHANG, J.; HUANG, L.; ZHANG, C.; LIU, S.; ZHAO, P.; LIU, H.; ZHU, L.; TAI, Y.; BAI, C.; GAO, T.; SONG, J.; XIA, P.; DONG, J.; ZHAO, J.; WANG, F.-S. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. **The Lancet Respiratory Medicine**, v. 8, n. 4, p. 420–422, 2020.

YANG, A.-P.; LIU, J.; TAO, W.; LI, H. The diagnostic and predictive role of NLR, d-NLR and PLR in COVID-19 patients. **International Immunopharmacology**, v. 84, p. 106504, 2020.

YANG, X.; YANG, Q.; WANG, Y.; WU, Y.; XU, J.; YU, Y.; SHANG, Y. Thrombocytopenia and its association with mortality in patients with COVID-19. **Journal of Thrombosis and Haemostasis**, v. 18, n. 6, p. 1469–1472, 2020.

YAO, X. H.; LI, T. Y.; HE, Z. C.; PING, Y. F.; LIU, H. W.; YU, S. C.; MOU, H. M.; WANG, L. H.; ZHANG, H. R.; FU, W. J.; LUO, T.; LIU, F.; GUO, Q. N.; CHEN, C.; XIAO, H. L.; GUO, H. T.; LIN, S.; XIANG, D. F.; SHI, Y.; ... BIAN, X. W. [A pathological report of three COVID-19 cases by minimal invasive autopsies]. *Zhonghua bing li xue za zhi = Chinese journal of pathology*, v. 49, n. 5, p. 411–417, 2020.

YAZDANPANA, F.; HAMBLIN, M. R.; REZAEI, N. The immune system and COVID-19: Friend or foe? **Life Sciences**, v. 256, p. 117900, 2020.

YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. **Journal of Infection**, v. 80, n. 6, p. 607–613, 2020.

YIP, C. Y. C.; YAP, E. S.; DE MEL, S.; TEO, W. Z. Y.; LEE, C.; KAN, S.; LEE, M. C. C.; LOH, W. N. H.; LIM, E. L.; LEE, S. Y. Temporal changes in immune blood cell parameters in COVID-19 infection and recovery from severe infection. **British Journal of Haematology**, v. 190, n. 1, p. 33–36, 2020.

YÜCE, M.; FILIZTEKIN, E.; ÖZKAYA, K. G. COVID-19 diagnosis -A review of current methods. **Biosensors & bioelectronics**, v. 172, p. 112752, 2021.

ZHANG, J.; CAO, Y.; TAN, G.; DONG, X.; WANG, B.; LIN, J.; YAN, Y.; LIU, G.; AKDIS, M.; AKDIS, C. A.; GAO, Y. Clinical, radiological, and laboratory characteristics and risk factors for severity and mortality of 289 hospitalized COVID-19 patients. **Allergy**, v. 76, n. 2, p. 533–550, 2021.

ZHANG, S.; GUO, M.; DUAN, L.; WU, F.; HU, G.; WANG, Z.; HUANG, Q.; LIAO, T.; XU, J.; MA, Y.; LV, Z.; XIAO, W.; ZHAO, Z.; TAN, X.; MENG, D.; ZHANG, S.; ZHOU, E.; YIN, Z.; GENG, W.; ... JIN, Y. Development and validation of a risk factor-based system to predict short-term survival in adult hospitalized patients with COVID-19: a multicenter, retrospective, cohort study. **Critical Care**, v. 24, n. 1, p. 438, 2020.

ZHOU, P.; YANG, X.-L.; WANG, X.-G.; HU, B.; ZHANG, L.; ZHANG, W.; SI, H.-R.; ZHU, Y.; LI, B.; HUANG, C.-L.; CHEN, H.-D.; CHEN, J.; LUO, Y.; GUO, H.; JIANG, R.-D.; LIU, M.-Q.; CHEN, Y.; SHEN, X.-R.; WANG, X.; ... SHI, Z.-L. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, v. 579, n. 7798, p. 270–273, 2020.

ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; LI, X.; YANG, B.; SONG, J.; ZHAO, X.; HUANG, B.; SHI, W.; LU, R.; NIU, P.; ZHAN, F.; MA, X.; WANG, D.; XU, W.; WU, G.; GAO, G. F.; TAN, W. A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, n. 8, p. 727–733, 2020.

ZINI, G.; BELLESI, S.; RAMUNDO, F.; D'ONOFRIO, G. Morphological anomalies of circulating blood cells in COVID-19. **American Journal of Hematology**, v. 95, n. 7, p. 870–872, 2020.

ZOU, X.; CHEN, K.; ZOU, J.; HAN, P.; HAO, J.; HAN, Z. Single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to 2019-nCoV infection. **Frontiers of Medicine**, v. 14, n. 2, p. 185–192, 2020.