

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**

**ESCOLA DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS-LINFÓCITOS COMO PREDITOR DE  
GRAVIDADE NAS INFECÇÕES POR SARS-CoV-2**

**Aluna: Amanda Cristina Zanlorenzi**

**Orientador: Prof. Dr. José Rocha Faria Neto**

**Curitiba, janeiro/2023**

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ**

**ESCOLA DE MEDICINA**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS-LINFÓCITOS COMO PREDITOR DE**

**GRAVIDADE NAS INFECÇÕES POR SARS-CoV-2**

Dissertação de mestrado acadêmico apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. José Rocha Faria Neto.

**Curitiba, janeiro/2023**



Pontifícia Universidade Católica do Paraná  
Escola de Medicina e Ciências da Vida  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE DISSERTAÇÃO DO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL  
DE MESTRADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ.**

Aos 20 dias do mês de abril de 2023 às 07:30, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação **"AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS-LINFÓCITOS COMO PREDITOR DE GRAVIDADE NAS INFECÇÕES POR SARS-CoV-2"** apresentado por **Amanda Cristina Zanlorenzi** para obtenção do título de mestre; Área de concentração: Pesquisa Médica Translacional.

A banca examinadora foi composta pelos seguintes membros:

| MEMBROS DA BANCA                              | ASSINATURA |
|-----------------------------------------------|------------|
| Prof. Dr. José Rocha Faria Neto - Presidente  |            |
| Prof. Dr. Adriano Akira Ferreira Hino (PUCPR) | p/:<br>    |
| Prof. Dr. Emilton Lima Junior (UFPR)          | p/:<br>    |

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

**Prof. Dr. José Rocha Faria Neto**

**Conceito: Aprovada**

**Prof. Dr. Adriano Akira Ferreira Hino**

**Conceito: Aprovada**

**Prof. Dr. Emilton Lima Junior**

**Conceito: Aprovada**

**Parecer Final: Aprovada**

Observações da Banca Examinadora:

**Prof. Dr. José Rocha Faria Neto**  
**Presidente da Banca Examinadora**

**Profa. Dra. Cristina Pellegrino Baena**  
**Coordenadora do PPGCS-PUCPR**

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho ao meu pai, Arilton Zanlorenzi (In Memoriam), médico pediatra formado pela Pontifícia Universidade Católica do Paraná, onde também me formei médica e, agora, concluo o Mestrado em Ciências da Saúde. Que seja mais um elo entre nós.

Com amor e saudades.

## AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares e amigos por todo o apoio, amor, paciência e incentivo indispensáveis para concretização desta dissertação. Obrigada, de todo meu coração, por fazerem parte deste momento tão importante em minha vida profissional e pessoal.

Ao meu orientador, Dr. José Faria, por ter me concedido a oportunidade de realizar este projeto. Agradeço imensamente pela confiança e por tantos ensinamentos transmitidos desde o início da minha graduação. Sua contribuição para minha formação como médica, pessoa e pesquisadora será sempre lembrada. Minha eterna gratidão e admiração.

Agradeço aos membros do nosso grupo de pesquisa, pela imensa dedicação, trocas e tantos conhecimentos compartilhados ao longo do processo. Em especial, agradeço às professoras Cristina Pellegrino Baena, Andrea Novais Moreno e Márcia Olandoski. É um grande privilégio aprender com vocês. Obrigada por serem exemplos inspiradores de mulheres na ciência.

*“Para navegar contra a corrente são necessárias condições raras: espírito de aventura, coragem, perseverança e paixão.”*

*NISE DA SILVEIRA, médica psiquiatra brasileira (1905-1999)*

## **IDENTIFICAÇÃO DA BANCA**

Modelo cedido pela secretaria do PPGCS

## **FOLHA INFORMATIVA**

A dissertação foi realizada nas instalações do Hospital Marcelino Champagnat e da Universidade Católica do Paraná, em colaboração com a equipe de pesquisa do estudo multicêntrico “COVID-19: Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba-PR”, coordenada pela professora Cristina Pellegrino Baena. A elaboração da tese seguiu a normatização estabelecida pela ABNT, em formato tradicional. Declaramos que não houve nenhum conflito de interesse.

Este trabalho foi realizado com bolsa PUCPR durante participação no programa PIBIC

MASTER da mesma Instituição.

## LISTA DE TABELAS

|                                                                                                                     |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>TABELA 1</b> – VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS – RNL.....                                                      | 43 |
| <b>TABELA 2</b> – VARIÁVEIS DESCRITIVAS – RNL E DESFECHOS CLÍNICOS.....                                             | 44 |
| <b>TABELA 3</b> – RNL X DESFECHO DE IOT – QUANTITATIVA.....                                                         | 45 |
| <b>TABELA 4</b> – PROPRIEDADES DO TESTE – RNL $\geq 7$ NA PREDIÇÃO DE IOT.....                                      | 46 |
| <b>TABELA 5</b> – RNL X DESFECHO DE IOT – CATEGÓRICA.....                                                           | 47 |
| <b>TABELA 6</b> – RNL X DESFECHO DE ÓBITO - QUANTITATIVA                                                            | 48 |
| <b>TABELA 7</b> - PROPRIEDADES DO TESTE – RNL $\geq 8$ NA PREDIÇÃO DE ÓBITO.....                                    | 49 |
| <b>TABELA 8</b> – RNL X DESFECHO DE ÓBITO – CATEGÓRICA.....                                                         | 50 |
| <b>TABELA 9</b> – RNL X DESFECHO COMBINADO IOT/ÓBITO – QUANTITATIVA....                                             | 51 |
| <b>TABELA 10</b> - PROPRIEDADES DO TESTE – RNL $\geq 7$ NA PREDIÇÃO DE IOT E/OU ÓBITO.....                          | 52 |
| <b>TABELA 11</b> – RNL X DESFECHO COMBINADO IOT/ÓBITO - CATEGÓRICA.....                                             | 53 |
| <b>TABELA 12</b> – VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS – CITOCINAS.....                                               | 54 |
| <b>TABELA 13</b> – VARIÁVEIS DESCRITIVAS – VALORES SÉRICOS RNL E CITOCINAS.....                                     | 56 |
| <b>TABELA 14</b> – CORRELAÇÃO ENTRE RNL X CITOCINAS – QUANTITATIVA.....                                             | 57 |
| <b>TABELA 15</b> – DIAGRAMAS DE DISPERSÃO RNL X CITOCINAS.....                                                      | 57 |
| <b>TABELA 16</b> – COMPARAÇÃO DOS GRUPOS DEFINIDOS PELA VARIÁVEL RNL (<7 OU $\geq 7$ ) EM RELAÇÃO ÀS CITOCINAS..... | 60 |
| <b>TABELA 17</b> – CORRELAÇÃO ENTRE PCR X CITOCINAS – QUANTITATIVA.....                                             | 61 |



## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                    |    |
|------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>FIGURA 1</b> – FLUXOGRAMA DE SELEÇÃO DOS PACIENTES PARA INCLUSÃO NO ESTUDO..... | 30 |
| <b>FIGURA 2</b> - CURVA DE ROC – SENSIBILIDADE X ESPECIFICIDADE – IOT.....         | 34 |
| <b>FIGURA 3</b> - CURVA DE ROC – SENSIBILIDADE X ESPECIFICIDADE – ÓBITO.....       | 37 |
| <b>FIGURA 4</b> - CURVA DE ROC – SENSIBILIDADE X ESPECIFICIDADE – IOT/ÓBITO.....   | 40 |

## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

SARS-CoV-2 - *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*

COVID-19 - Doença por Coronavírus 2019, (do inglês *Coronavirus Disease 2019*)

OMS - Organização Mundial da Saúde

SRAG - Síndrome respiratória aguda grave

IL-1b - Interleucina 1-beta

IL-6 - Interleucina 6

TNF- $\alpha$  - Fator de necrose tumoral alfa

IFN- $\gamma$  - Interferon gama

RNL - Relação neutrófilos-linfócitos

SUS - Sistema Único de Saúde

PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> - Pressão parcial de oxigênio/fração inspirada de oxigênio

PCR - Proteína C Reativa

CPK - Creatinofosfoquinase

LDH - Lactato desidrogenase

VHS - Velocidade de hemossedimentação

ALT - Alanina Aminotransferase

AST - Aspartato Aminotransferase

TAP - Tempo de ativação da protrombina

TVP - Trombose venosa profunda

TEP - Tromboembolismo pulmonar

CIVD - Coagulação Intravascular Disseminada

SARS-CoV-1 - *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 1*

MERS-CoV - *Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*

UTI - Unidade de Terapia Intensiva

SDRA - Síndrome do desconforto respiratório agudo

IL-10 - Interleucina -10

TGF- $\beta$  - Fator de crescimento transformador-beta

TCD4 - Linfócito T helper ou T auxiliar

TCD8 - Linfócito T citotóxico

NK - Linfócitos NK ou Células exterminadoras naturais (do inglês *Natural Killer Cell*)

ECA2 - Enzima conversora de angiotensina 2

SIRS - Síndrome da resposta inflamatória sistêmica

HIV - Vírus da imunodeficiência humana

NETs - Armadilhas extracelulares neutrofílicas

NETose – Morte celular regulada, mediada por NETs

ROS - Espécies Reativas de Oxigênio

RML – Relação monócitos-linfócitos

RPL – Relação plaquetas-linfócitos

IOT - Intubação orotraqueal

VMI - Ventilação mecânica invasiva

VNI - Ventilação não invasiva

SCA - Síndrome coronariana aguda

IL-2 - Interleucina 2

IL-4 - Interleucina 4

IL-8 - Interleucina 8

IgG - Imunoglobulina da Classe G

IL-15 - Interleucina 15

PIBIC Master - Programa Institucional de Bolsa de Iniciação Científica Master

CEP - Comitê de Ética e Pesquisa

TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

CNS - Conselho Nacional de Saúde

HMC - Hospital Marcelino Champagnat

SpO<sub>2</sub> - Saturação periférica de oxigênio

PCR - Real Time Polymerase Chain Reaction

ELISA - Ensaio de imunoabsorção enzimática

CURVAS ROC - Receiver operator characteristic curve

AUC - Área abaixo da curva de ROC

VPP - Valor preditivo positivo

VPN - Valor preditivo negativo

RR - Risco Relativo ou Razão de Incidências

$|\rho|$  - Coeficiente de correlação de postos de Spearman

DPOC - Doença pulmonar obstrutiva crônica

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

VOC - Variante de Preocupação (do inglês *Variant of Concern*)

## RESUMO

**Introdução:** A pandemia de COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, afetou globalmente mais de 650 milhões de pessoas até final de 2022, causando mais de 6,5 milhões de óbitos. Embora a maioria dos infectados apresente quadros clínicos brandos, outros tendem a evoluir para estágios mais graves da doença. Torna-se essencial, portanto, conhecer preditores precoces de gravidade, visando otimizar o atendimento e fornecer subsídios para decisões baseadas em evidência. Do ponto de vista laboratorial, o hemograma aponta achados cardinais da infecção pelo SARS-CoV-2, como a redução de linfócitos e aumento dos neutrófilos. Esses achados poderiam fundamentar a utilização da relação neutrófilos-linfócitos (RNL), já aplicada em outras patologias, como potencial biomarcador de mau prognóstico na COVID-19. **Objetivo:** Avaliar a RNL como preditor precoce da necessidade de intubação orotraqueal (IOT) e óbito em pacientes admitidos no ambiente hospitalar por COVID-19, além de estabelecer correlação entre a RNL e citocinas envolvidas na resposta imune ao vírus. **Método:** Estudo de coorte retrospectivo, realizado com prontuários eletrônicos de pacientes internados por COVID-19 no Hospital Marcelino Champagnat, entre março/2020 e agosto/2021. Foram incluídos >18 anos, com RT-PCR reagente para SARS-CoV-2 e que possuíam coleta de hemograma admissional. Posteriormente, foram selecionados aqueles com dosagem sérica de uma ou mais citocinas durante o internamento. Curvas ROC definiram pontos de corte para RNL. A medida de associação estimada foi Risco Relativo (RR). Correlações entre as variáveis foram estimadas por coeficientes de Spearman. Aplicou-se a regressão de Poisson com variância robusta e o nível de significância adotado foi de 5%. **Resultado:** Participaram do estudo 955 pacientes. O acréscimo de cada unidade na RNL resultou no aumento de 2% no risco de necessitar de IOT e 2% no risco de óbito. Pacientes com valores de  $RNL \geq 7$  na admissão apresentaram 2,09 vezes mais risco de necessitar de IOT. Medidas de  $RNL \geq 8$  sinalizaram 1,93 vezes maior risco de óbito. Por fim, 245 pacientes compuseram a análise das citocinas, que evidenciou fraca correlação da RNL com IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$  e IL-1b. **Conclusão:** A RNL obtida de hemograma inicial de pacientes admitidos com COVID-19 é preditora de maior risco de evolução para intubação orotraqueal e óbito. A fraca correlação entre RNL e diversas citocinas envolvidas na resposta inflamatória ao SARS-CoV-2 abre caminho para novos estudos sobre os mecanismos associados à hiperinflamação na COVID-19.

**Palavras-Chave:** SARS-CoV-2; COVID-19; Relação neutrófilos-linfócitos (RNL); Hemograma; Citocinas

## ABSTRACT

**Introduction:** The SARS-CoV-2 virus has caused the global pandemic of COVID-19, affecting over 650 million individuals, and leading to over 6.5 million deaths by the end of 2022. While most infected individuals present with mild symptoms, some may progress to severe disease manifestations. Thus, early markers of disease severity are essential for optimizing treatment and guiding evidence-based decision making. Blood analysis in SARS-CoV-2 infection reveals a decrease in lymphocytes and an increase in neutrophils, which may support the use of the neutrophil-lymphocyte ratio (NLR) as a prognostic biomarker for adverse outcomes in COVID-19, similar to its use in other pathological conditions. **Objective:** The aim of this study was to assess the utility of NLR as a predictor of orotracheal intubation (OTI) and death among hospitalized COVID-19 patients, and to investigate the correlation between NLR and cytokines involved in the immune response to SARS-CoV-2. **Method:** This was a retrospective cohort study conducted at Marcelino Champagnat Hospital from March 2020 to August 2021, including patients aged 18 years or older with positive RT-PCR for SARSCoV-2 and an admission blood count. Patients with serum cytokine records were selected for further analysis. ROC curves were used to determine NLR thresholds, associations were measured using relative risk measures, and correlations were determined using the Spearman's coefficient. Poisson regression with robust variance was applied, and a significance level of 5% was adopted. **Results:** The study included 955 patients. An increase in NLR by 1 unit was associated with a 2% increase in the risk of OTI and a 2% increase in the risk of death. Patients with NLR values  $\geq 7$  at admission had twice the risk of requiring OTI compared to those with NLR  $< 7$ . NLR values  $\geq 8$  were associated with a 1.93-fold higher risk of death. The cytokine analysis, which involved 245 patients, revealed a weak correlation between NLR and IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$ , and IL-1b. **Conclusion:** The results of this study demonstrate that the NLR obtained from the initial blood count of hospitalized COVID-19 patients is a predictor of elevated risk for progression to orotracheal intubation and death. The weak correlation between NLR and several cytokines involved in the inflammatory response in COVID-19 highlights the need for further research into the mechanisms of hyperinflammation in COVID-19.

**Keywords:** SARS-CoV-2; COVID-19; Neutrophil-lymphocyte ratio (NLR); Blood count; Cytokines

## RESUMO POPULAR

A COVID-19, doença causada pelo vírus SARS-CoV-2, é responsável por uma das maiores crises sanitárias da história, provocando desde infecções leves (ou assintomáticas) até quadros graves, com alto risco de morte. Embora os casos tenham diminuído e existam avanços em relação à vacinação e tratamentos, os desafios continuam e pesquisas científicas sobre a doença são extremamente necessárias. Este estudo propõe a utilização da relação neutrófilos-linfócitos (RNL) - obtida pela divisão entre valor de neutrófilos pelo valor de linfócitos presentes no hemograma - como possível preditor da necessidade de intubação orotraqueal (IOT) e óbito nos pacientes internados pela COVID-19. Tal descoberta possibilita que um exame de sangue barato e amplamente utilizado na rotina hospitalar seja utilizado para identificar o mais rápido possível pacientes com maior risco de serem intubados ou morrerem pela doença. Buscou-se também identificar correlações da RNL com citocinas - proteínas inflamatórias com papel essencial na resposta imunológica. Para isso, dados de 955 pacientes internados pela COVID-19 em um hospital de Curitiba foram coletados e analisados estatisticamente, sendo confirmado que indivíduos com valores da RNL iguais ou acima de 7 no primeiro exame laboratorial demonstraram 2,09 vezes mais risco de serem intubados. Aqueles com valores de RNL iguais ou maiores que 8 tiveram 1,93 vezes mais risco de morrer pela doença. Sendo assim, a inclusão desse marcador em protocolos para uso na prática clínica é recomendada, a fim de melhorar o atendimento à população, identificar casos graves de forma precoce e colaborar no combate à pandemia da COVID-19.

## SUMÁRIO

|                                                                                                    |           |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>INTRODUÇÃO .....</b>                                                                            | <b>17</b> |
| <b>JUSTIFICATIVA .....</b>                                                                         | <b>20</b> |
| <b>ESTADO DA ARTE.....</b>                                                                         | <b>21</b> |
| Avaliação de gravidade de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 .....                               | 21        |
| Achados laboratoriais de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 .....                                | 22        |
| Utilização da RNL na COVID-19 .....                                                                | 27        |
| Utilização da RNL como marcador de gravidade em outras patologias .....                            | 31        |
| RNL e citocinas inflamatórias na resposta imune ao SARS-CoV-2 .....                                | 33        |
| Medicamentos propostos para tratamento da COVID-19 .....                                           | 35        |
| <b>OBJETIVOS .....</b>                                                                             | <b>36</b> |
| Objetivo geral .....                                                                               | 36        |
| Objetivo secundário.....                                                                           | 36        |
| <b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                                    | <b>37</b> |
| <b>ANÁLISE ESTATÍSTICA .....</b>                                                                   | <b>40</b> |
| RNL x Desfechos de IOT e ÓBITO .....                                                               | 40        |
| RNL x Citocinas inflamatórias .....                                                                | 41        |
| <b>RESULTADOS.....</b>                                                                             | <b>43</b> |
| <b>1. PAPEL PREDITOR DA RNL NOS DESFECHOS PROPOSTOS .....</b>                                      | <b>44</b> |
| 1.1 Amostra final .....                                                                            | 44        |
| 1.2 Estatísticas descritivas de variáveis demográficas e clínicas .....                            | 44        |
| 1.3 RNL como preditor da necessidade de IOT .....                                                  | 46        |
| 1.4 RNL como preditor de ÓBITO.....                                                                | 49        |
| 1.5 RNL como preditor de IOT/ÓBITO COMBINADOS .....                                                | 52        |
| <b>2. CORRELAÇÃO DA RNL E VARIÁVEIS RELATIVAS ÀS CITOCINAS .....</b>                               | <b>55</b> |
| 2.1 Amostra final .....                                                                            | 55        |
| 2.2 Estatísticas descritivas de variáveis demográficas e clínicas .....                            | 56        |
| 2.3 Correlação entre a RNL x IL-6; IL-10; IFN- $\gamma$ ; IL-4; TNF- $\alpha$ , IL-15 e IL-1b..... | 58        |
| <b>DISCUSSÃO .....</b>                                                                             | <b>63</b> |
| <b>CONCLUSÃO.....</b>                                                                              | <b>70</b> |
| <b>PERSPECTIVAS E CONTRIBUIÇÃO ORIGINAL PARA A CIÊNCIA .....</b>                                   | <b>71</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>                                                                           | <b>72</b> |



## INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019, um novo coronavírus foi identificado como causador de um surto de pneumonia grave e síndrome respiratória em Wuhan, na China. Esse novo vírus, denominado SARS-CoV-2, espalhou-se para o resto do mundo e, em 11 de março de 2020, a COVID-19 foi caracterizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma pandemia<sup>1</sup>. Em 30 de dezembro de 2022, dados atualizados revelaram mais de 660 milhões de casos e aproximadamente 6,7 milhões de óbitos acumulados no mundo, segundo Johns Hopkins Coronavirus Resource<sup>2</sup>.

No atual momento pandêmico, por ação da vacinação contra a doença, nota-se redução expressiva no número de casos de síndrome respiratória aguda grave (SRAG), da demanda por leitos de internação e do número de óbitos pela COVID-19 no Brasil e no mundo<sup>3</sup>. Entretanto, o vírus permanece em circulação e possui amplo potencial mutagênico, com mais de 5 variantes de preocupação identificadas, a exemplo da Ômicron e suas subvariantes, com destaque para a mais recente XBB.1.5, também chamada de “Kraken”<sup>4</sup>.

Essas mutações podem conferir ao vírus maior capacidade de transmissibilidade e virulência, o que dificulta a identificação do padrão de sazonalidade e pode gerar escape imunológico, mesmo nos indivíduos com esquema vacinal completo ou infecção prévia<sup>3,4</sup>. Vale ressaltar, ainda, que apesar de 87% da população brasileira ter recebido pelo menos uma dose da vacina contra o SARS-CoV-2 até final de 2022, essa cobertura é discrepante pela óptica regional, haja vista o estado de Roraima, Paraíba, Tocantins e Alagoas, nos quais menos de 60% da população recebeu ao menos uma dose do esquema vacinal preconizado<sup>5</sup>.

Além desse contexto, o Brasil apresenta alto índice de mortalidade em excesso associado à pandemia da COVID-19, calculado pela diferença entre o número de mortes durante um período (crítico) específico e o número esperado para esse mesmo período considerando taxas dos anos anteriores, o que reflete não apenas nas mortes causadas diretamente pelo vírus, mas também nas decorrentes dos efeitos colaterais da crise sanitária<sup>6,7</sup>. De acordo com o relatório da OMS, estima-se que, até 31 de dezembro de 2021, tenham ocorrido no Brasil 681.267 mortes em excesso associadas à pandemia da COVID-19<sup>6</sup>. No mundo, esse número foi de 14,91 milhões no mesmo período<sup>6</sup>.

Tendo em vista a magnitude da pandemia da COVID-19, diversos estudos têm sido conduzidos para avaliar exames úteis na previsão de mortalidade e complicações associadas à infecção pelo SARS-CoV-2<sup>8,9,10,11,12,13</sup>. Além disso, pesquisas para identificar tratamentos eficazes contra a doença têm sido extensamente realizadas pela comunidade científica mundial<sup>14,15,16,17</sup>. O monitoramento de biomarcadores pode ajudar os profissionais de saúde a identificar pacientes que apresentam maior risco de desenvolver complicações graves, possibilitando intervenções mais precoces e efetivas.

Dos aspectos clínicos da infecção, a COVID-19 é considerada uma doença sistêmica, que pode afetar diversos sistemas além do respiratório, incluindo cardiovascular, renal, sistema nervoso central e imunológico<sup>18,19</sup>. Os sintomas mais comuns incluem febre, tosse seca, fadiga e dispneia, mas a apresentação clínica pode variar desde quadros assintomáticos até casos graves ou críticos<sup>18,19,20</sup>. Nesse aspecto, embora a maioria dos infectados pelo SARS-CoV-2 apresentem quadros leves, aqueles que desenvolvem a forma crítica da doença possuem alto risco de óbito e tendem a evoluir rapidamente, deixando pouca janela para intervenção da equipe de saúde<sup>21,22</sup>.

A gravidade da doença pode ser influenciada por diversos fatores, mas está bem definido que a resposta inflamatória exacerbada, mediada principalmente por citocinas inflamatórias, desempenha papel fundamental na deterioração do estado de saúde dos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2<sup>23,24,25,26,27</sup>. O desequilíbrio na produção e liberação dessas citocinas, especialmente IL-1b, IL-6, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , pode levar à ativação de neutrófilos e à depleção de linfócitos, caracterizando um ciclo inflamatório responsável por danos teciduais e possíveis desfechos negativos da doença<sup>24,25,26</sup>. Desse modo, a linfopenia e a neutrofilia são medidas úteis na avaliação dos pacientes com COVID-19, tendo sido propostas como biomarcadores de pior prognóstico da doença<sup>28,29,30,31,32</sup>.

Diante do exposto, compreende-se o embasamento da utilização da relação neutrófilos-linfócitos (RNL) como um marcador de gravidade na COVID-19, bem como sua possível correlação com a resposta imune ao SARS-CoV-2. Nesse aspecto, vale ressaltar que, apesar de consagrada na literatura como biomarcador de inflamação sistêmica, ainda não está claro se a RNL guarda correlação com alguma citocina inflamatória específica. Os mecanismos subjacentes à hiperinflamação na COVID-19 também não foram totalmente elucidados<sup>18,22,23,24</sup>.

Esse panorama reforça que embora haja melhoria no cenário pandêmico, as responsabilidades assistenciais em toda a rede de serviços de saúde continuam sendo um desafio de saúde global, e esforços precisam ser empreendidos no sentido de suprir essa demanda. A produção científica é crucial para fortalecer a capacitação das equipes de saúde, produzir e melhorar o acesso às modalidades terapêuticas, elaborar protocolos e reduzir morbimortalidade pela COVID-19. Ferramentas para detecção precoce dos casos graves como a proposta por este estudo vão ao encontro desse objetivo.

## JUSTIFICATIVA

Ainda que a maioria dos infectados pela SARS-CoV-2 apresente quadros leves e que existam avanços em relação à vacinação e tratamentos da doença, os pacientes críticos possuem alto risco de óbito e, por vezes, apresentam evolução clínica desfavorável muito rapidamente, o que pode dificultar e limitar as intervenções da equipe de saúde<sup>20,21</sup>. Torna-se essencial, portanto, conhecer preditores de gravidade e mau prognóstico dessa condição.

Em meio ao desafiador cenário da pandemia e crise sanitária, a dosagem de um exame altamente disponível e de baixo custo no Brasil (R\$: 4,11 na tabela SUS), que demonstre bons valores preditivos, pode ser um novo critério a ser incorporado na prática clínica, atuando como ferramenta para intervenções e abordagens terapêuticas mais precoces e individualizadas<sup>33</sup>.

Destaca-se, ainda, que apesar do papel da tempestade de citocinas na resposta imune ao SARS-CoV-2 estar bem estabelecida, as vias relacionadas a esse fenômeno ainda não foram totalmente elucidadas<sup>23, 24, 26, 27</sup>. Sendo assim, a hipótese da existência de correlação entre a RNL e citocinas específicas, se confirmada, colabora na compreensão de tais mecanismos e possibilita o desenvolvimento de novos métodos de predição de gravidade, além da identificação de possíveis alvos de tratamento.

## ESTADO DA ARTE

### Avaliação de gravidade de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2

A escala de gravidade proposta pela OMS categoriza a COVID-19 em quatro níveis: leve, moderada, grave e crítica<sup>20</sup>. A classificação é baseada essencialmente na avaliação de sintomas respiratórios, pneumonia, hipoxemia, insuficiência respiratória, choque ou falência de múltiplos órgãos<sup>20</sup>. São classificados como leves os pacientes que apresentam sintomas respiratórios leves, sem evidência de pneumonia ou hipoxemia; como moderados aqueles que apresentam sintomas respiratórios, evidência clínica ou radiográfica de pneumonia, mas sem hipoxemia grave; graves os que apresentam hipoxemia grave ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 200 \text{ mmHg}$ ) e/ou insuficiência respiratória e/ou choque ou falência de múltiplos órgãos<sup>20</sup>. Por fim, são classificados como críticos os pacientes que apresentam insuficiência respiratória aguda grave ( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 100 \text{ mmHg}$ ) e/ou choque séptico ou falência de múltiplos órgãos<sup>20</sup>.

Marcadores inflamatórios como a elevação da proteína C reativa (PCR), interleucina-6 (IL-6) e marcadores de dano celular, como a creatinofosfoquinase (CPK) e a lactato desidrogenase (LDH), foram apontados como indicadores de gravidade e complicações da doença<sup>8,9,10,11,12</sup>. Alterações radiológicas na tomografia de tórax também foram relacionadas a um maior risco de mortalidade e mau prognóstico, possibilitando uma classificação da doença com base no grau de acometimento pulmonar, considerando opacidade em vidro fosco, consolidações e espessamento dos septos: leve se  $< 25\%$ , moderada de  $25\%$  a  $50\%$  e grave se o acometimento for  $> 50\%$ <sup>8,13</sup>.

## **Achados laboratoriais de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2**

O hemograma, principal exame laboratorial utilizado neste estudo, oferece informações clínicas relevantes sobre os pacientes por meio da análise clínica de três grandes séries celulares: o eritrograma, que avalia a chamada “série vermelha”, composta pelos eritrócitos, hemoglobina e seus repetidos cálculos; o leucograma, representado pelas “células brancas” compostas por neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos, monócitos e suas células jovens precursoras - por meio do qual se observam as características da resposta imune a organismos invasores; e, por último, o plaquetograma, que possibilita a avaliação quantitativa das plaquetas, células que desempenham papel fundamental na coagulação sanguínea<sup>34</sup>.

O perfil laboratorial dos pacientes pode variar de acordo com a severidade da doença, comorbidades pré-existentes e outros fatores individuais. De acordo com dados da literatura, nas infecções pelo SARS-CoV-2, os achados mais comuns incluem a redução do número de linfócitos, chamada linfopenia, e o aumento do número de neutrófilos, conhecido como neutrofilia<sup>9,10,11,23,32</sup>. Além disso, os pacientes podem apresentar elevação de marcadores de inflamação sistêmica, como a proteína C reativa (PCR), a velocidade de hemossedimentação (VHS) e a ferritina sérica<sup>9,10,11,32,32</sup>. Também pode haver elevação de marcadores de dano celular, como a lactato desidrogenase (LDH), as enzimas hepáticas alanina e aspartato aminotransferase (ALT e AST), a creatinofosfoquinase (CPK) e a troponina<sup>10,11,12,31</sup>. Outros achados incluem anemia, diminuição da albumina sérica e distúrbios hidroeletrólíticos, como hiponatremia e hipocalemia<sup>12,18,32,35</sup>.

Observa-se, ainda, impacto significativo do SARS-CoV-2 na hemostasia, com frequente consumo plaquetário (trombocitopenia), redução da atividade fibrinolítica,

elevação do tempo de ativação da protrombina (TAP) e aumento do produto da degradação da fibrina – expresso por valores de D-dímero<sup>36,37,38,39</sup>. Tais alterações estão associadas ao maior risco de complicações tromboembólicas, desde trombose venosa profunda (TVP) e tromboembolismo pulmonar (TEP) até distúrbios extremamente graves, como a coagulação intravascular disseminada (CIVD)<sup>37,38,39</sup>. Um estudo que comparou a COVID-19 com outros coronavírus (SARS-CoV-1 e MERS-CoV) em relação às alterações na hemostasia, concluiu que as infecções pelo SARS-CoV-2 cursam mais frequentemente com tais complicações, além de serem mais graves e generalizadas<sup>39</sup>. Vale ressaltar que a avaliação quantitativa seriada do D-dímero se mostrou útil na predição de gravidade da doença<sup>36,37</sup>.

### ***Linfopenia***

A linfopenia pode ser considerada um sinal laboratorial cardinal dos pacientes com COVID-19 sintomática, tendo sido consistentemente associada à gravidade da doença<sup>10, 12, 28, 30, 32, 40, 41,42</sup>. Vários estudos relataram associação entre a linfopenia e desfechos clínicos negativos, a exemplo do aumento do tempo de internamento; necessidade de suporte ventilatório invasivo; admissão em unidade de terapia intensiva (UTI); maiores taxas de evolução para SDRA (síndrome do desconforto respiratório agudo) e aumento do risco de mortalidade<sup>30,40,41</sup>.

Essas alterações expressam uma disfunção na reação imune ao vírus, uma vez que os linfócitos são fundamentais na defesa contra infecções virais, atuam na modulação da resposta imunológica e produzem citocinas anti-inflamatórias - como a interleucina-10 (IL-10) e fator de crescimento transformador-beta (TGF- $\beta$ ) -, as quais desempenham papel essencial no controle de respostas exacerbadas, a exemplo da tempestade de citocinas observada nos casos graves de COVID-19<sup>24,26,27</sup>.

No que tange às subpopulações linfocitárias envolvidas nesse processo, os pacientes com COVID-19 apresentam significativa diminuição de células TCD4, TCD8, células B e NK<sup>28,42</sup>. Os indivíduos com quadros mais graves apresentam linfócitos totais significativamente mais baixos, assim como células TCD4, CD8 e células B. Por outro lado, pacientes responsivos ao tratamento ou que evoluem com melhora clínica tendem a apresentar elevação dos linfócitos totais, bem como das células T CD8 e células B, evidenciando sinais de imunidade adaptativa antiviral de células T e B<sup>28,42</sup>.

Cabe salientar que o valor de referência para a contagem de linfócitos varia de acordo com o laboratório, mas em geral utiliza-se a faixa de 1.000 a 4.800 células/ $\mu$ L no sangue periférico<sup>43</sup>. Uma contagem de linfócitos abaixo de 1.000 células/ $\mu$ L é geralmente classificada como linfopenia<sup>43</sup>. Valores abaixo de 800 células/ $\mu$ L, no contexto da COVID-19, caracterizam linfopenia grave, podendo variar de acordo com método de análise e população avaliada<sup>28, 30, 41</sup>.

Os mecanismos exatos envolvidos nessa redução do número de linfócitos nas infecções pelo SARS-CoV-2 ainda não são plenamente compreendidos, mas existem possíveis explicações descritas na literatura. Uma hipótese é que o SARS-CoV-2 seja capaz de infectar diretamente os linfócitos, especialmente T e B, uma vez que proteína *spike* do vírus se liga ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) para invadir as células humanas<sup>29,41</sup>. Esse receptor possui alta expressão no trato respiratório, mas os linfócitos também o expressam, o que pode explicar a infecção direta dessas células de defesa. Alguns autores sugerem que SARS-CoV-2 pode aumentar a apoptose (morte celular programada) de células linfoides<sup>30,41,44</sup>.



Além disso, sabe-se que alguns pacientes apresentam resposta imunológica exacerbada à infecção, podendo evoluir com síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SIRS) que, conseqüentemente, eleva a destruição de linfócitos. Esse mecanismo é mediado principalmente pela liberação excessiva de citocinas pró-inflamatórias, tais como interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral TNF- $\alpha$ , que estão diretamente associados à ativação de neutrófilos e macrófagos, levando à morte celular indiscriminada<sup>44,45</sup>. Ademais, linfócitos podem ser recrutados para os pulmões e outros tecidos infectados e, quando ativados, também resultam na produção e liberação de citocinas inflamatórias, resultando na queda da contagem de linfócitos<sup>30,41</sup>.

Por fim, algumas medicações usadas no tratamento da COVID-19, como corticoides, podem causar linfopenia como efeito colateral<sup>45</sup>. Nesse aspecto, vale ressaltar que no estudo RECOVERY, realizado com o objetivo de investigar o uso da dexametasona, definiu-se que o tratamento na dose de 6mg da medicação a ser administrada uma vez ao dia, durante 10 dias, reduziu mortalidade em pacientes com maior gravidade da doença, os quais tendem a apresentar níveis mais baixos de linfócitos<sup>14</sup>. Outros fatores como desnutrição, idade avançada e presença de doenças concomitantes também podem contribuir para a linfopenia em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2<sup>19,30,40</sup>.

### ***Neutrofilia***

Os neutrófilos são células do sistema imunológico que têm como principal função a eliminação de patógenos celulares por meio da fagocitose, representando entre 40-70% dos leucócitos circulantes<sup>34</sup>. Embora os neutrófilos sejam geralmente associados às infecções bacterianas, evidências sugerem que essas células também desempenham um papel importante em infecções virais, a exemplo do vírus da influenza, da dengue e da

imunodeficiência humana (HIV)<sup>25</sup>. Isso ocorre porque os neutrófilos produzem proteínas que recrutam outras células do sistema imunológico para o local de infecção, como células dendríticas e células T<sup>25</sup>. No entanto, ainda que essas interações sejam apontadas como benéficas para a coordenação da resposta imunológica, é importante considerar o potencial de desregulação causado por essa alteração, além da possibilidade de infecções secundárias<sup>23</sup>.

No contexto da COVID-19, estudos apontam a neutrofilia como um achado comum nos pacientes infectados, estando associada a maior risco de doença grave e mortalidade<sup>23,26,27,31,46,47</sup>. Os mecanismos envolvidos na ativação dos neutrófilos durante a infecção pelo SARS-CoV-2 ainda não foram totalmente elucidados, mas autores sugerem que a neutrofilia observada em pacientes com COVID-19 pode estar relacionada a um estado de hiperinflamação, no qual há uma produção excessiva de citocinas pró-inflamatórias, tais como a IL-6, ciclicamente estimulando a produção e liberação de neutrófilos a partir da medula óssea e sua migração para os tecidos infectados<sup>23,24,26,27,48</sup>. Vale destacar que, nas infecções pelo SARS-CoV-2, observou-se que a maioria dos pacientes apresentava neutrofilia já na admissão hospitalar, no estágio inicial da doença, sem outras infecções bacterianas associadas<sup>40</sup>.

Somado a esses fatores, os neutrófilos podem contribuir para a inflamação excessiva por meio da formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos, chamadas de NETs<sup>47,48</sup>. Esse fenômeno foi pesquisado em pacientes com COVID-19, e pesquisadores demonstraram que o SARS-CoV-2 é capaz de induzir diretamente a liberação das NETs, as quais se comportam como redes, aprisionando e eliminando possíveis microrganismos invasores num processo denominado “NETose”<sup>48</sup>. O problema está no fato de que, quando esse processo ocorre de forma intensa, acaba por elevar os níveis das chamadas “Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) intracelulares em neutrófilos”, as quais modulam a cascata de

coagulação e do sistema complemento, desempenhando importante papel na inflamação e trombogênese— complicação frequentemente relatada nas infecções pelo SARS-CoV-2<sup>47,48</sup>.

Por fim, o papel dos neutrófilos na patogênese da síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), discutido em artigo de revisão, consiste na liberação de enzimas proteolíticas e radicais livres, que danificam o epitélio alveolar e aumentam a permeabilidade capilar<sup>49</sup>. Esse dano pode resultar em acúmulo de líquido nos espaços intersticiais e alvéolos, levando a edema pulmonar, incompatibilidade ventilação/perfusão e insuficiência respiratória<sup>49,50</sup>. Em pacientes com COVID-19, laudos de necropsia identificaram infiltrações de neutrófilos nos capilares pulmonares, associados à presença de inflamação e microtrombos. Além desse achado, observou-se uma maior quantidade de neutrófilos nas áreas de lesão. Tais achados reforçam o papel relevante da neutrofilia na gravidade das infecções pelo SARS-CoV-2<sup>51,52</sup>.

## **Utilização da RNL na COVID-19**

### ***Estudos internacionais***

As infecções pelo SARS-CoV-2 podem cursar com um estado hiperinflamatório, desencadeado pela tempestade de citocinas e pelo aumento dos níveis de neutrófilos sanguíneos<sup>23,24,26,27,48</sup>. De forma concomitante, a linfopenia é frequentemente observada em pacientes acometidos pela COVID-19, tornando a RNL um indicador relevante na mensuração da resposta inflamatória e gravidade da doença<sup>9, 29, 31,32,40,41,42,46</sup>. Devido à sua possível aplicabilidade como biomarcador da doença, a RNL tem sido objeto de estudo em várias pesquisas científicas.

Uma revisão sistemática e metanálise que incluiu 32 artigos, totalizando 8120 pacientes, indicou que a RNL possui desempenho razoável como marcador diagnóstico e de gravidade da infecção pelo SARS-CoV-2, e um ótimo desempenho na previsão da mortalidade<sup>29</sup>. Níveis mais elevados da RNL foram associados ao óbito pela COVID-19 com razão de chance de 18,69, sensibilidade de 83% e especificidade de 80%<sup>29</sup>. O artigo destaca que ao definir valores de  $RNL \geq 3,63$  para gravidade, houve redução da sensibilidade para 70% e aumento da especificidade para 86%, mas não especifica quais valores de RNL devem ser utilizados como preditores dos desfechos propostos<sup>29</sup>. É importante destacar que a utilidade da RNL para o diagnóstico da COVID-19 em momentos futuros deve ser desconsiderada, uma vez que a constatação do autor foi realizada em um contexto pandêmico, com viés de amostragem e sem comparação com outros vírus que podem, eventualmente, cursar com a elevação da RNL.

Outra metanálise que analisou 19 artigos, sendo 15 realizados na China, 1 na Turquia, 1 no Paquistão, 1 na Espanha e 1 nos Estados Unidos, concluiu que o RNL possui bons valores preditivos de gravidade e mortalidade em pacientes com COVID-19<sup>31</sup>. No entanto, os valores de corte para RNL encontrados nos artigos incluído na revisão variaram de forma considerável, sendo categorizados pelos autores em subgrupos de “alto valor de corte”, os quais utilizaram  $RNL \geq 4,5$  para gravidade e  $\geq 6,5$  para mortalidade, e “baixo valor de corte”, com limites definidos abaixo desses valores. A AUC combinada para prever a gravidade e mortalidade da doença nos subgrupos de “alto valor de corte” foi de 0,86 (IC 95% 0,83–0,89) e 0,92 (95 % CI 0,89–0,94), respectivamente<sup>31</sup>.

Um estudo de coorte prospectivo realizado em um hospital de Pequim, incluiu 61 pacientes com COVID-19 e estratificou a gravidade da doença em leve, moderada, grave ou crítica, ainda na admissão<sup>46</sup>. Os resultados indicaram que a RNL foi um preditor precoce

independente de risco para doença crítica. Os pesquisadores também propuseram uma "escala prognóstica" para auxiliar na tomada de decisão clínica sobre o ambiente de manejo do paciente, sugerindo que pacientes com 50 anos ou mais e valores de RNL  $\geq 3,13$  possuem maior risco de evoluir para doença crítica e, portanto, devem ser atendidos onde tenham acesso rápido a UTI<sup>46</sup>. As limitações deste estudo incluem o número relativamente pequeno da amostra avaliada, além da falta de definição do desfecho clínico final, uma vez que a maioria dos participantes permanecia internado na data de publicação do artigo<sup>46</sup>.

Outra coorte semelhante, realizada no Hospital Geral de Cuautitlán, no México, incluiu 125 pacientes e buscou descrever a utilidade das relações neutrófilos-linfócitos, monócitos-linfócitos (RML) e plaquetas-linfócitos (RPL) para o prognóstico de mortalidade e necessidade de suporte ventilatório nas infecções pelo SARS-CoV-2<sup>52</sup>. Como conclusão, viu-se que valores de RNL  $>13$  (OR: 2,750,  $p = 0,001$ ) e de RML  $>0,5$  foram associados ao desfecho de óbito, ao passo que a RPL não demonstrou impactar sobrevida<sup>52</sup>. Vale ressaltar que, no estudo, valores de RNL  $>13$  não foram relacionados a necessidade de suporte ventilatório ( $p = 0,178$ ), o que pode sugerir alguma inconsistência nos dados<sup>52</sup>. Idade  $>50$  anos e linfopenia foram as variáveis associadas à necessidade de suporte ventilatório na população do estudo<sup>52</sup>.

Por fim, em estudo transversal retrospectivo conduzido no Hospital da Universidade de Wuhan, na China, pesquisadores buscaram avaliar o valor preditivo da RNL admissional de 1004 pacientes internados com COVID-19, para o desfecho de mortalidade intra-hospitalar por todas as causas<sup>53</sup>. A análise mostrou um valor mediano de RNL de 49,06 (intervalo: 25,71-69,70) em não sobreviventes, em comparação a um valor mediano de RNL igual a 4,11 (intervalo: 2,44-8,12) em sobreviventes, com diferença significativa entre os dois grupos ( $p < 0,001$ )<sup>53</sup>. Medidas admissionais de RNL  $>11,75$  foram significativamente

correlacionadas com morte intra-hospitalar nos pacientes acometidos pela COVID-19, com sensibilidade de 97,5% e especificidade de 78,1%<sup>53</sup>. Vale ressaltar que a utilização da RNL para outros desfechos clínicos não foi avaliada<sup>53</sup>.

### ***Estudos brasileiros***

Um estudo realizado com 121 pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, internados em um hospital terciário de alta complexidade na cidade de Curitiba, encontrou que a RNL foi significativamente maior nos pacientes graves (definidos na pesquisa como aqueles que necessitaram de intubação orotraqueal (IOT) e ventilação mecânica invasiva (VMI) ou não invasiva (VNI) durante a internação) em comparação com os grupos moderados (que receberam apenas suplementação de oxigênio via cateter nasal) e os controles (com SRAG de diferentes etiologias)<sup>54</sup>. A média dos valores de RNL foi de 22,29 nos pacientes graves *versus* 6,3 nos grupos moderados ( $p < 0,001$ )<sup>54</sup>. Além disso, foi proposto que um ponto de corte de 15,2 para RNL estaria associado a um maior risco de morte<sup>54</sup>.

Outro estudo brasileiro realizado em um hospital de São Paulo, incluiu 524 pacientes com COVID-19 e analisou como diferentes fatores de risco impactaram a mortalidade em 28 dias durante sua hospitalização, tanto na admissão quanto ao longo do tempo (com base em medidas de sinais vitais clínicos e exames laboratoriais realizados durante o 3º, 8º e 14º dias de internação), e comparou os resultados obtidos entre modelos incorporados na admissão e acompanhamento<sup>55</sup>. Os pesquisadores encontraram que os marcadores laboratoriais LDH, ureia, proteína C reativa e a RNL permaneceram associados à mortalidade após ajuste para fatores clínicos no acompanhamento, e podem ajudar no prognóstico desses pacientes<sup>55</sup>. Não foram propostos valores de corte para RNL no estudo em questão<sup>55</sup>.

É possível inferir, portanto, que diversas pesquisas já demonstraram que casos graves de COVID-19 tendem a apresentar valores elevados da RNL, especialmente quando associados à uma resposta inflamatória exacerbada. Porém, não há uma definição clara de quais valores de corte para RNL devem ser valorizados na prática clínica. As propriedades do teste para desfechos específicos, como óbito, tempo de internação e necessidade de intubação, ainda não foram bem definidas, prejudicando a aplicabilidade desse biomarcador. Além disso, pesquisas brasileiras sobre a temática também são escassas.

### **Utilização da RNL como marcador de gravidade em outras patologias**

Biomarcadores de inflamação são rotineiramente solicitados e avaliados na prática médica, com o objetivo de elucidar a condição clínica do paciente que está sendo assistido. Uma curva ascendente da dosagem de Proteína C reativa, por exemplo, levanta um alerta sobre deterioração clínica ou infecção<sup>56</sup>. Nesse mesmo contexto, a RNL já foi sugerida como possível biomarcador prognóstico útil e de baixo custo não somente em doenças infecciosas como pneumonia, tuberculose e endocardite, mas também nas síndromes coronarianas agudas (SCA), miopatias inflamatórias como polimiosite/dermatomiosite e em algumas neoplasias como o câncer colorretal e tumores sólidos<sup>57,58,59,60,61,62,63</sup>.

Um estudo retrospectivo realizado com 121 pacientes acometidos por endocardite infecciosa demonstrou que valores admissionais de RNL  $>7,1$  foram preditores de mortalidade intra-hospitalar e eventos do sistema nervoso central, com sensibilidade de 80% e especificidade de 83%<sup>57</sup>. Da mesma forma, uma análise retrospectiva que incluiu 91 crianças internadas por pneumonia grave em um hospital na China concluiu que RNL (medida 24 horas após a admissão) possui valor preditivo para mau prognóstico da doença, mas reitera que a combinação de indicadores possui maior valor nessa avaliação<sup>58</sup>. Ainda

no contexto das doenças infecciosas, um estudo comparou vários parâmetros em pacientes com tuberculose e sarcoidose e encontrou diferenças significativas na RNL, com valores maiores que 2,55 predominando em pacientes com tuberculose, o que sugere utilidade da aplicação da RNL na distinção entre as duas patologias<sup>59</sup>.

Nos quadros de SCA, um estudo brasileiro apontou que a existe correlação direta entre valores da RNL e o diagnóstico de isquemia miocárdica aguda, podendo ser utilizada como ferramenta de identificação precoce dos pacientes admitidos com suspeita de SCA nos serviços de saúde<sup>60</sup>. Foram evidenciados menores valores de RNL em indivíduos com dor torácica de origem não-cardíaca ( $3,0 \pm 1,6$ ), em oposição à valores mais elevados da RNL ( $>5,7$ ) em pacientes que fecharam o diagnóstico final de SCA, tendo esse biomarcador uma especificidade de 91,1%, com odds ratio de 4,51 (intervalo de confiança de 95% - 1,51 a 13,45) para tal desfecho<sup>60</sup>.

O uso da RNL nas miopatias inflamatórias, por sua vez, foi evidenciado em um estudo retrospectivo que contemplou 197 pacientes com polimiosite/dermatomiosite recém diagnosticados e buscou identificar características laboratoriais dos sobreviventes e não sobreviventes em 5 anos<sup>61</sup>. Os resultados indicaram que valores elevados da RNL estão independentemente associados à uma pior sobrevida global nesses indivíduos. O valor de corte ótimo que maximizou a sensibilidade e especificidade para este desfecho foi de RNL igual a 4,775<sup>61</sup>. Entretanto, o intervalo de referência não foi extensivamente estudado.

Por fim, uma revisão sistemática e meta-análise que contemplou 71 artigos, compreendendo 32.788 pacientes em estágios iniciais e terminais do câncer colorretal, avaliou a utilidade prognóstica da RNL pré-tratamento e, apesar do viés de publicação significativo, concluiu que valores elevados desse biomarcador estão relacionados a pior



sobrevida global, sobrevida livre de doença e recorrência no contexto do câncer colorretal<sup>62</sup>. Nessa mesma linha de pesquisa, uma outra metanálise contemplou 100 estudos com um total de 40.559 pacientes portadores de tumores sólidos para avaliar o efeito prognóstico da RNL e demonstrou que valores de RNL > 4 estão associados a piores taxas de sobrevida global, sobrevida específica do câncer, sobrevida livre de progressão e sobrevida livre de doença em muitos tumores sólidos<sup>63</sup>. Os autores destacam, porém, que o método de seleção de pontos de corte para RNL permaneceu obscuro em muitos estudos<sup>63</sup>.

Em resumo, a RNL já foi apontada como biomarcador prognóstico de fácil acesso e baixo custo em diversas doenças, destacando o papel fisiopatológico da hiperinflamação e desequilíbrio na resposta imune, os quais estão intimamente relacionados com evoluções clínicas desfavoráveis. No entanto, mais estudos são necessários para estabelecer valores de referência para RNL e sua aplicabilidade na prática dos profissionais de saúde.

### **RNL e citocinas inflamatórias na resposta imune ao SARS-CoV-2**

As citocinas desempenham importante papel na fisiopatologia da COVID-19, uma vez que modulam a inflamação em diferentes etapas da doença<sup>19,23,27,64</sup>. O pico de liberação de citocinas pró-inflamatórias ocorre entre o 7º e o 14º dia de infecção, e este processo visa garantir uma resposta imunológica eficiente, atraindo células como macrófagos, linfócitos, neutrófilos e monócitos para o tecido afetado, com objetivo de combater a infecção pelo SARS-CoV-2<sup>23,27,64,65</sup>. No entanto, quando essa resposta é exacerbada, ocorrem efeitos oxidativos e danos secundários aos tecidos saudáveis - mecanismo responsável pelas disfunções orgânicas vistas nos casos graves da doença<sup>19,23,27,65</sup>.

Com base na literatura publicada até o momento, enfatiza-se o papel da TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-6 e IL-10 na resposta ao SARS-CoV-2, as quais foram observadas em níveis

séricos elevados nos pacientes com a doença em curso<sup>44,64,65,66,67</sup>. Destacam-se, porém, as citocinas IL-6 e IL-10, consideradas preditores da mau prognóstico da doença, uma vez que se apresentam maiores níveis nos pacientes com COVID-19 grave quando comparados àqueles com quadros leves ou moderados<sup>44,64,65</sup>.

Nesse aspecto, não foram encontradas pesquisas que correlacionaram diretamente a RNL e cada uma das citocinas envolvidas na resposta imune ao SARS-CoV-2. Entretanto, visto que a gravidade da doença está associada tanto à RNL quanto à tempestade de citocinas inflamatórias, e que o desequilíbrio na produção e liberação dessas citocinas pode levar à ativação dos neutrófilos e à depleção dos linfócitos, a possível associação entre a elevação da RNL e maiores níveis séricos das citocinas inflamatórias foi comentada por alguns autores, com destaque para IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ <sup>23, 65, 66,68</sup>.

Da mesma forma, uma outra linha de pesquisa buscou compreender a ativação imune em resposta ao SARS-CoV-2, dividindo 222 pacientes em fenótipos, com base na RNL e nos valores de IgG (anticorpos contra o vírus)<sup>69</sup>. Os fenótipos foram definidos da seguinte forma: RNL elevado + IgG elevado; RNL elevado + IgG baixo; RNL baixo + IgG elevado; RNL baixo + IgG baixo<sup>69</sup>. Os resultados indicaram que os pacientes com valores de RNL alto e IgG alto OU baixo apresentaram níveis mais elevados de citocinas inflamatórias, bem como redução de TCD4+ quando comparados a indivíduos com fenótipo RNL baixo e IgG baixo ( $p < 0,05$ )<sup>69</sup>. Além disso, o estudo apontou que a taxa de recuperação de pacientes graves foi inversamente proporcional aos valores de RNL e IgG, ou seja, quanto menores esses valores, maiores foram as chances de recuperação clínica<sup>69</sup>.

Sendo assim, os dados apresentados corroboram a hipótese de que existe correlação direta entre valores de RNL e algumas citocinas inflamatórias específicas envolvidas na

resposta imune ao SARS-CoV-2. No entanto, são necessárias pesquisas adicionais para confirmar essa hipótese e compreender de maneira mais detalhada os mecanismos de hiperinflamação envolvidos na resposta imune à doença.

### **Medicamentos propostos para tratamento da COVID-19**

Em relação às pesquisas sobre medicamentos potencialmente eficazes no tratamento da COVID-19, o estudo "RECOVERY" incluiu 6.425 pacientes hospitalizados pelo SARS-CoV-2, e demonstrou que a dexametasona, corticosteroide que atua como anti-inflamatório e imunossupressor, reduziu mortalidade naqueles que necessitaram de oxigenioterapia ou ventilação mecânica<sup>14</sup>. Além disso, o Tocilizumabe, anticorpo monoclonal que bloqueia a ação da IL-6, mostrou-se eficaz na redução do suporte ventilatório em pacientes com infecções graves pelo SARS-CoV-2<sup>15</sup>.

O Remdesivir, por sua vez, é um antiviral que atua inibindo a replicação do vírus e, conforme estudo publicado no New England Journal of Medicine, demonstrou ser eficaz na redução do tempo de recuperação dos pacientes que necessitaram de suplementação de oxigênio devido a pneumonia pelo SARS-CoV-2<sup>16</sup>. Nessa mesma linha, o Paxlovid (nirmatrelvir + ritonavir) mostrou reduzir hospitalização e morte por COVID-19 em pacientes de alto risco<sup>17</sup>.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo geral**

Avaliar o papel preditor da RNL obtida em hemograma de pacientes admitidos no ambiente hospitalar por COVID-19 quanto à possível evolução para intubação e/ou óbito.

### **Objetivo secundário**

Estabelecer a correlação entre os valores da relação neutrófilos-linfócitos com as citocinas envolvidas na resposta inflamatória ao SARS-CoV-2 (TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-10, IL-15 e IL-1b).

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Esta dissertação de Mestrado pelo PIBIC Master é uma análise complementar do estudo denominado “COVID 19: Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR”, o qual foi devidamente aprovado pela Comissão de Ética e Pesquisa (CEP) da Pontifícia Universidade Católica do Paraná (PUC-PR), com o Número do Parecer: **3.944.734**.

Foram incluídos neste estudo participantes que leram e assinaram o termo de consentimento informado (TCLE), demonstrando compreensão das informações apresentadas e concordância da utilização dos dados em prontuários eletrônicos para fins de pesquisa, conforme resolução nº 466/12 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) - em anexo.

### **Delineamento e população do estudo**

Estudo de coorte observacional retrospectivo de pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, internados no Hospital Marcelino Champagnat (HMC), em Curitiba, entre março de 2020 e agosto de 2021.

### **CrITÉRIOS de seleção**

A seleção dos participantes do estudo respeitou os seguintes critérios de inclusão: Idade maior de 18 anos; admissão hospitalar por quadro clínico compatível com COVID-19 (febre, dispneia, hipoxemia -  $SpO_2 < 95\%$ , e/ou tosse) entre março de 2020 e agosto de 2021; infecção aguda pelo SARS-CoV-2 comprovada pelo método do RT-PCR, (*Real Time Polymerase Chain Reaction*); possuir registro dos dados do hemograma coletado na admissão hospitalar.

Foram excluídos os pacientes que apresentaram RT-PCR não reagente para COVID-19; pacientes com história de transplante hematológico ou de órgãos sólidos; pacientes que não coletaram hemograma na admissão - ou sem registro dos resultados em prontuário.

### **Coleta de dados**

Foram coletados dados clínicos dos pacientes por meio da revisão de prontuários eletrônicos do banco de dados do hospital Marcelino Champagnat (sistema de prontuário eletrônico Tasy®). As informações dos pacientes foram identificadas retrospectivamente, incluindo dados referentes a idade; sexo; comorbidades referidas; valor da saturação de oxigênio na admissão (de acordo com o 1º registro da anamnese do pronto socorro); número de dias de sintomas gripais referidos que precederam a admissão hospitalar; desfechos clínicos com ênfase na necessidade de IOT e óbito. Todas as informações foram organizadas em planilha de excel® para posterior análise.

Da mesma forma, foram coletados e planilhados os dados do hemograma admissional de cada paciente, destacando os valores totais de neutrófilos e linfócitos para posterior cálculo do produto da divisão entre eles, definindo assim o resultado da relação neutrófilos-linfócitos - principal variável de interesse desta pesquisa.

### **Citocinas inflamatórias**

A coleta de dados relacionada às citocinas, por sua vez, foi realizada em conjunto com integrantes do “Projeto de Pesquisa COVID-19: Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba-PR”, os quais conduziram um estudo de coorte prospectivo e realizaram coletas das citocinas entre abril de 2020 e agosto de 2021, de 390 pacientes contemplados na mesma amostragem e submetidos aos mesmos critérios

de inclusão aplicados nesta pesquisa. Foram excluídos, porém, pacientes imunodeprimidos e os que fizeram uso de tocilizumabe.

As citocinas foram quantificadas utilizando kits de ELISA disponíveis comercialmente para IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-15 e IL-1b (ImmunoTools, Friesoythe, Alemanha) e todos os testes foram realizados de acordo com as instruções do fabricante. A coleta do material biológico ocorreu durante três períodos: de abril a outubro de 2020; de novembro de 2020 a fevereiro de 2021 e de maio a agosto de 2021. A quantificação da absorbância foi realizada pelo leitor de microplaca Versamax.

Os resultados laboratoriais foram identificados retrospectivamente e organizados em planilha de Excel®, a fim de estabelecer associações entre os valores da relação neutrófilos-linfócitos e as citocinas envolvidas na resposta inflamatória ao SARS-CoV-2 - análise que compõe o objetivo secundário desta dissertação.

Para isso, foram selecionados, dentro da amostra inicial, pacientes que possuíam registro dos resultados de dosagens séricas de pelo menos uma das interleucinas (IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL-15, IL-1b). Valores provenientes da primeira coleta de citocinas de cada paciente - que variou entre o 1º e, no máximo, 7º dia de internação - foram considerados, uma vez que essa dosagem não faz parte dos exames hospitalares admissionais padronizados e foi objetivamente realizada por membros da equipe de pesquisa na qual se insere este projeto.

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

### RNL x Desfechos de IOT e ÓBITO

As informações coletadas foram analisadas descritivamente no programa SPSS® e os resultados de variáveis quantitativas foram descritos por média, desvio padrão, mínimo e máximo. Variáveis categóricas foram descritas por frequências e percentuais e, para definir os pontos de corte da RNL associados aos desfechos de necessidade de IOT, óbito e IOT/ÓBITO combinados, foram ajustadas curvas ROC, calculados valores da área abaixo da curva (AUC) e avaliadas a sensibilidade e especificidade indicados utilizando o critério de Youden<sup>70</sup>. Outras propriedades do teste como acurácia, valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) foram calculadas com base na prevalência dos desfechos estimada pela amostra do estudo.

Inicialmente, para cada um dos desfechos, foi ajustado um modelo de Regressão de Poisson univariado, considerando-se o desfecho como variável dependente e cada uma das variáveis como variável independente (explicativa). Testou-se a hipótese nula de que não há associação entre a RNL e a probabilidade de IOT óbito e IOT/ÓBITO combinados, *versus* a hipótese alternativa de que há associação.

Em seguida, para cada um dos desfechos, foi ajustado um modelo de Regressão de Poisson multivariado, incluindo-se como variável independente a RNL e como covariáveis a idade (anos); dias de sintomas referidos antes da admissão ( $\leq 7$  dias ou  $>7$  dias); número de comorbidades referidas ( $<3$  ou 3 ou mais); saturação de oxigênio (SpO<sub>2</sub>) na admissão (%), realizada de forma não invasiva por oximetria de pulso, de acordo com registro da 1ª anamnese de entrada no pronto socorro. Os pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e do número de comorbidades foram definidos pelo ajuste de curvas ROC.



Considerando-se cada desfecho como variável dependente para a variável RNL, ajustada para as demais variáveis incluídas no modelo, testou-se a hipótese nula de que não há associação entre a RNL e a probabilidade de ocorrência do desfecho, versus a hipótese alternativa de que há associação. Os modelos foram ajustados ponderando os pontos de corte obtidos dos ajustes de curvas ROC, considerando a RNL como variável contínua e categórica. Aplicou-se a regressão de Poisson com variância robusta e o teste de Wald para avaliar a significância das variáveis. A condição de normalidade das variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov.

A medida de associação estimada foi o risco relativo (RR), para a qual foram apresentados intervalos de confiança de 95%. Valores de  $p < 0,05$  indicaram significância estatística. Os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics v.28.0. Armonk, NY: IBM Corp.

### **RNL x Citocinas inflamatórias**

Para a análise da correlação entre RNL e as variáveis relativas às citocinas, foram estimados coeficientes de correlação de Spearman, com intervalos de confiança de 95%. A condição de normalidade das variáveis quantitativas foi avaliada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov e os dados foram analisados com o programa computacional IBM SPSS Statistics v.28.0. Armonk, NY: IBM Corp.

Inicialmente, testou-se a hipótese nula de que o coeficiente de correlação entre valores de cada uma das citocinas e valores da RNL quantitativos é igual a zero, versus a hipótese alternativa de que o coeficiente de correlação é diferente de zero. Diagramas de Dispersão foram utilizados para ilustrar as análises e cada ponto correspondeu a um paciente

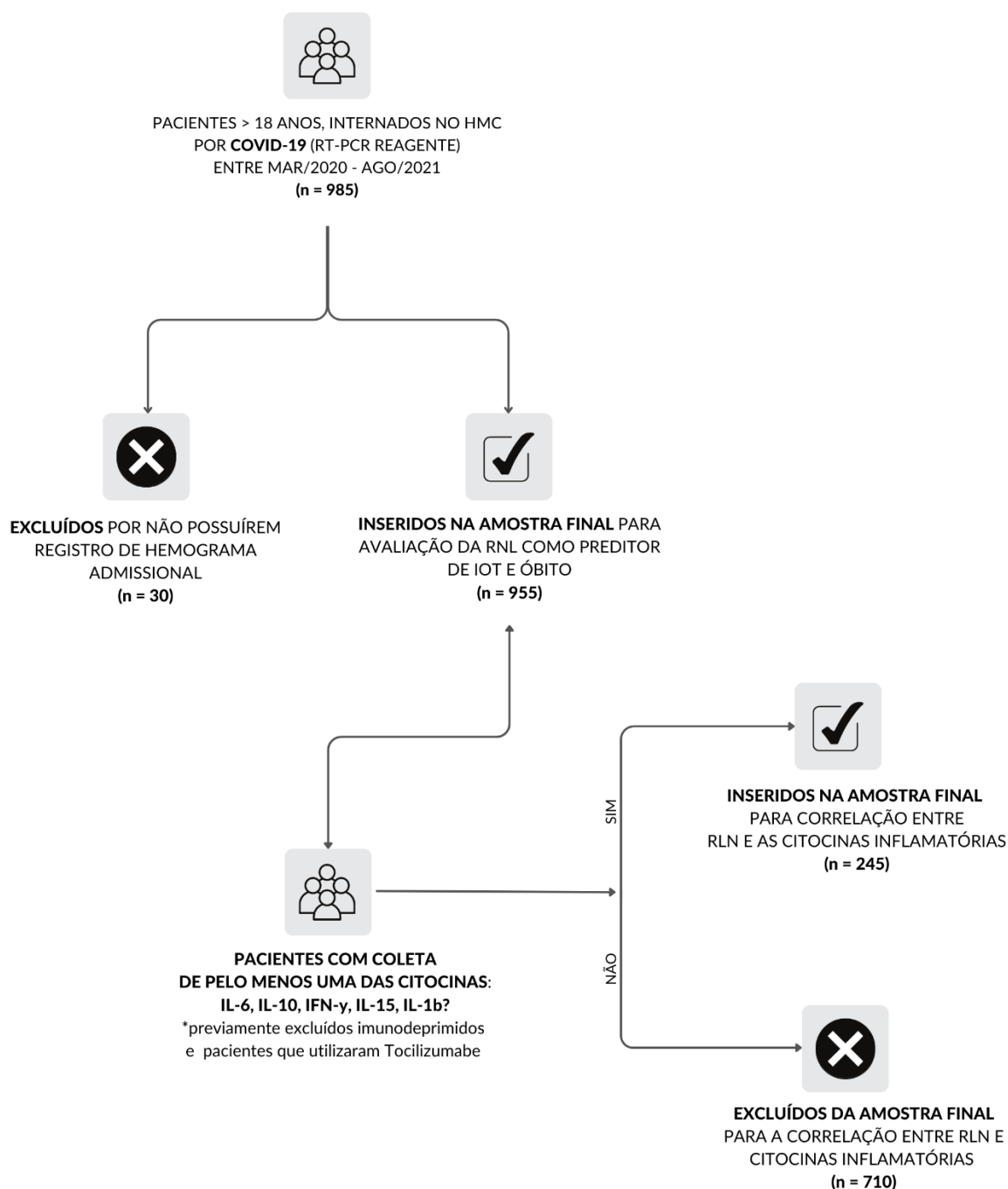
da amostra, sendo as coordenadas de cada ponto os resultados classificados pela fórmula do Ranking de Besson. A linha traçada representou a tendência de correlação entre as variáveis.

Valores de  $p < 0,05$  indicaram existência de correlação entre as variáveis e o grau de associação foi classificado em: muito forte -  $|\rho| > 0,90$ ; forte -  $|\rho|$  entre 0,71 e 0,90; moderado -  $|\rho|$  entre 0,51 e 0,70 ou fraco -  $|\rho| < 0,50$ <sup>71</sup>. Para valores de  $p > 0,05$ , concluímos que não há evidência de que o coeficiente de correlação seja diferente de zero, o que significa que não se pode afirmar a existência de correlação entre as duas variáveis avaliadas.

Por fim, ajustou-se o modelo com base nos valores de corte para RNL provenientes da curva ROC nos desfechos combinados de IOT/ÓBITO. Para cada uma das variáveis de citocinas, testou-se a hipótese nula de que os resultados são iguais para casos com RNL < valor de corte e casos com RNL  $\geq$  valor de corte, *versus* a hipótese alternativa de que os resultados são diferentes. O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi usado na comparação dos dois grupos definidos pela RNL em relação às citocinas.

## RESULTADOS

**FIGURA 1 – Fluxograma de seleção dos pacientes para inclusão no estudo**



Fonte: elaboração própria/2022

## **1. PAPEL PREDITOR DA RNL NOS DESFECHOS PROPOSTOS**

### **1.1 Amostra final**

Inicialmente, foram selecionados 985 pacientes, maiores de 18 anos, internados no HMC por COVID-19 (RT-PCR reagente) no período entre março de 2020 e agosto de 2021. No entanto, 30 pacientes foram excluídos do estudo por não possuírem dados do hemograma admissional, totalizando um  $n = 955$ , os quais compuseram efetivamente a avaliação do papel preditor da RNL em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2 quanto à possível evolução para intubação e/ou óbito, conforme fluxograma de seleção (figura 1).

### **1.2 Estatísticas descritivas de variáveis demográficas e clínicas**

Dos 955 pacientes, 64,6% eram do sexo masculino, com média de idade de  $58 \pm 16,6$ , sendo 46,2% idosos (60 anos ou mais). Na população estudada, 30,1% possuíam 3 ou mais comorbidades. A hipertensão arterial foi mais prevalente (52,6%), seguida por obesidade (29,9%), diabetes (24,8%) e dislipidemia (24,5%). Asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) foram relatadas por 3,7% e 3,6% dos pacientes, respectivamente.

Quanto aos dias de sintomas que antecederam a admissão hospitalar, 56,4% referiram que já apresentavam sintomas gripais há mais de 7 dias antes do internamento pela COVID-19. Por fim, pouco mais de 67% dos pacientes apresentaram  $SpO_2 < 95\%$  na aferição de entrada no pronto socorro hospitalar. As características clínicas e demais comorbidades da população estudada estão demonstradas na tabela 1.

**TABELA 1 – VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS - RNL**

| Variável                                  | n   | Classificação              | n                             | %              |
|-------------------------------------------|-----|----------------------------|-------------------------------|----------------|
| Idade (anos)*                             | 955 | 58,0 ± 16,6                | 514 <60 anos<br>441 ≥ 60 anos | 53,8%<br>46,2% |
| Sexo                                      | 955 | Fem<br>Masc                | 338<br>617                    | 35,4<br>64,6   |
| Saturação na admissão*                    | 955 | 90,9 ± 7,0<br><95%<br>≥95% | 643<br>312                    | 67,3<br>32,7   |
| Tempo de sintomas (dias)**                | 950 | ≤ 7<br>> 7                 | 416<br>539                    | 43,6<br>56,4   |
| Número de comorbidades**                  | 955 | < 3<br>≥ 3                 | 668<br>287                    | 69,9<br>30,1   |
| Hipertensão arterial sistêmica (HAS)      | 955 | Sim                        | 453                           | 47,4%          |
| Diabetes mellitus (DM)                    | 955 | Sim                        | 237                           | 24,8%          |
| Insuficiência cardíaca                    | 954 | Sim                        | 53                            | 5,6%           |
| Doença arterial coronariana (DAC)         | 954 | Sim                        | 73                            | 7,7%           |
| Infarto agudo do miocárdio (IAM)          | 954 | Sim                        | 42                            | 4,4%           |
| Acidente vascular encefálico (AVE)        | 954 | Sim                        | 25                            | 2,6%           |
| Doença arterial periférica                | 954 | Sim                        | 15                            | 1,6%           |
| Arritmia                                  | 953 | Sim                        | 62                            | 6,5%           |
| Asma                                      | 955 | Sim                        | 35                            | 3,7%           |
| Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) | 955 | Sim                        | 34                            | 3,6%           |
| Anemia                                    | 952 | Sim                        | 30                            | 3,2%           |
| Demência                                  | 955 | Sim                        | 39                            | 4,1%           |
| Dislipidemia                              | 954 | Sim                        | 234                           | 24,5%          |
| Obesidade                                 | 954 | Sim                        | 285                           | 29,9%          |

\*média ± desvio padrão

\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajustes de curvas ROC.

Quanto aos valores séricos obtidos para o biomarcador proposto, viu-se que a mediana da RNL na população estudada foi de 6,8, atingindo valor máximo de 44,5 e mínimo de 0,4. Em relação aos desfechos, 32,8% dos pacientes necessitaram de intubação orotraqueal e 22,3% faleceram no internamento pela COVID-19, conforme descrito na tabela 2.

**TABELA 2 – VARIÁVEIS DESCRITIVAS – RNL E DESFECHOS CLÍNICOS**

| Variável                 | N   | Classificação | n                | %    |
|--------------------------|-----|---------------|------------------|------|
| Neutrófilos/ Linfócitos* | 955 |               | 6,8 (0,4 – 44,5) |      |
| Necessidade de IOT       | 955 | Não           | 642              | 67,2 |
|                          |     | Sim           | 313              | 32,8 |
| Desfecho                 | 955 | Alta          | 742              | 77,7 |
|                          |     | Óbito         | 213              | 22,3 |

\*mediana (min-máxima)

### 1.3 RNL como preditor da necessidade de IOT

Dos 955 pacientes da amostra, 313 foram intubados durante a internação. (Tabela 2)

- **Análise quantitativa**

Houve associação direta entre valores da RNL e o desfecho de IOT ( $p < 0,001$ ) na população estudada, independentemente da idade (anos), da saturação de oxigênio na admissão (%), dos dias de sintomas antes da admissão ( $\leq 7$  dias ou  $>7$  dias) ou do número de comorbidades (até 3; 3 ou mais).

O acréscimo de cada unidade na RNL resultou no aumento de 2% no risco de necessitar de IOT durante o internamento hospitalar pela COVID-19 ( $RR=1,02$ ;  $p < 0,001$ ), conforme descrito na tabela 3.

**TABELA 3 – RNL X DESFECHO DE IOT – QUANTITATIVA**

| Variável                                 | Classif        | n          | IOT              |                  |                  |                                     |
|------------------------------------------|----------------|------------|------------------|------------------|------------------|-------------------------------------|
|                                          |                |            | Descritiva       | p*<br>(univ)     | p**<br>(multiv)  | RR (IC95%)                          |
| Idade (anos)                             | Não IOT        | 642        | 55,6 ± 17,1      |                  |                  | 1,009<br>(1,003-1,015)              |
|                                          | IOT            | 313        | 63,1 ± 14,7      | <0,001           | 0,003            |                                     |
| Saturação O2 na<br>admissão*             | Não IOT        | 643        | 91,8 ± 6,2       |                  |                  | 0,98<br>(0,97 - 0,99)               |
|                                          | IOT            | 312        | 89 ± 8,2         | <0,001           | 0,001            |                                     |
| Dias de sintomas<br>antes da admissão*** | > 7            | 536        | 138 (25,7%)      |                  |                  | 1,57<br>(1,30 - 1,89)               |
|                                          | ≤ 7            | 414        | 172 (41,5%)      | <0,001           | <0,001           |                                     |
| Número de<br>comorbidades                | < 3            | 668        | 178 (26,6%)      |                  |                  | 1,37<br>(1,13 - 1,68)               |
|                                          | 3 ou mais      | 287        | 135 (47%)        | <0,001           | 0,002            |                                     |
| <b>Neutrófilos/<br/>Linfócitos</b>       | <b>Não IOT</b> | <b>642</b> | <b>8,1 ± 7,6</b> |                  |                  | <b>1,02</b><br><b>(1,01 - 1,03)</b> |
|                                          | <b>IOT</b>     | <b>313</b> | <b>13 ± 12</b>   | <b>&lt;0,001</b> | <b>&lt;0,001</b> |                                     |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald, p<0,05

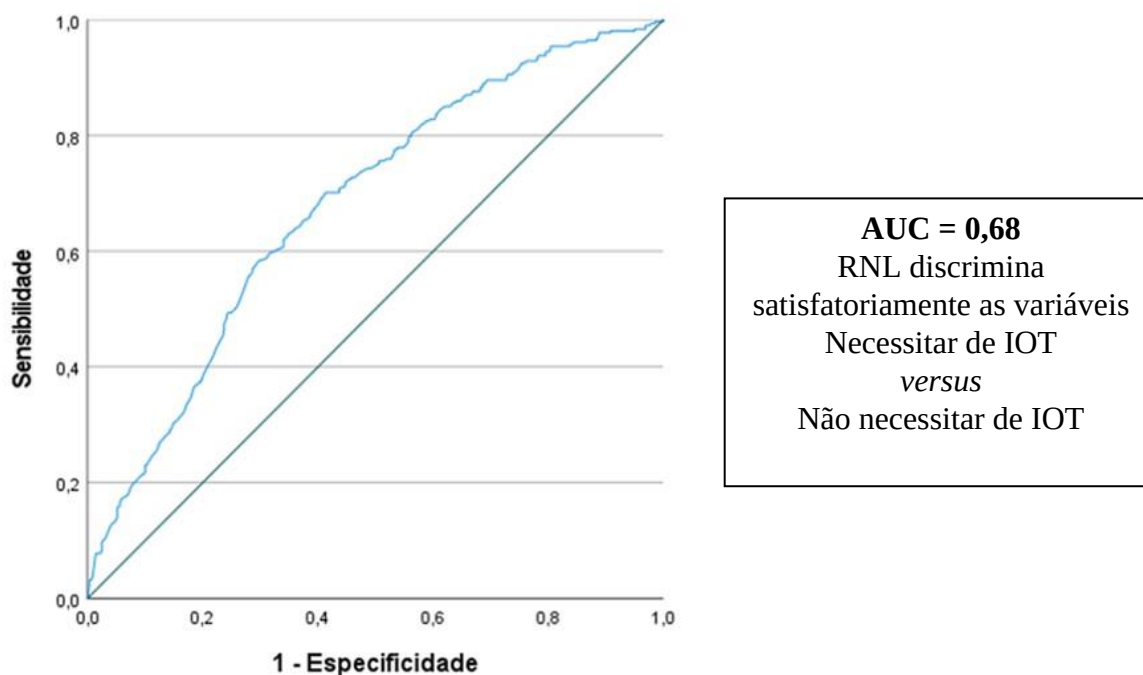
\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajustes de curvas ROC.

- Avaliação de pontos de corte para RNL associados à necessidade de IOT**

O ponto de corte de RNL indicado pela curva ROC para o desfecho de IOT foi igual a 7. Valores da RNL <7 corresponderam a não necessidade de IOT e valores ≥ 7 corresponderam a necessidade de IOT. A área sob a curva ROC (AUC) foi 0,68.

Quanto às propriedades do teste, o ponto de corte de 7 para RNL mostrou-se 67,7% sensível e 60% específico na predição do risco de IOT. A acurácia foi de 62,5% e o valor preditivo positivo (VPP) de 45,2%. O valor preditivo negativo (VPN), por sua vez, foi de 79,2%, conforme descrito na tabela 4.

FIGURA 2 - CURVA de ROC – Sensibilidade x Especificidade – IOT

TABELA 4 – PROPRIEDADES DO TESTE – RNL ( $\geq 7$ ) NA PREDIÇÃO DE IOT

| Neutrófilos/Linfócitos ( $\geq 7$ )<br>para o desfecho IOT | Resultado | IC 95%        |
|------------------------------------------------------------|-----------|---------------|
| Propriedades do teste                                      |           |               |
| Sensibilidade                                              | 67,7%     | 62,6% - 72,9% |
| Especificidade                                             | 60,0%     | 56,2% - 63,8% |
| Acurácia                                                   | 62,5%     | 59,4% - 65,6% |
| Valor preditivo positivo (VPP)                             | 45,2%     | 40,7% - 49,7% |
| Valor preditivo negativo (VPN)                             | 79,2%     | 75,6% - 82,8% |

Para os cálculos de VPP e VPN foi considerada a prevalência de IOT estimada pela amostra do estudo.

- Análise categórica**

O risco relativo de necessitar de intubação orotraqueal, considerando os valores de corte para RNL indicados pelas curvas ROC ( $<7$  ou  $\geq 7$ ) foi de 2,09 ( $p < 0,001$ ).

Tal resultado permite afirmar que, na população estudada, valores admissionais de RNL iguais ou maiores do que 7 marcaram 2,09x mais risco IOT quando comparados às medidas da RNL menores do que 7, conforme evidenciado na tabela 5.



**TABELA 5 – RNL X DESFECHO DE IOT – CATEGÓRICA**

| Variável                                  | Classif   | n   | IOT         |              |                |                          |
|-------------------------------------------|-----------|-----|-------------|--------------|----------------|--------------------------|
|                                           |           |     | Descritiva  | p*<br>(univ) | p*<br>(multiv) | RR (IC95%)               |
| Idade (anos)                              | Não IOT   | 642 | 55,6 ± 17,1 | <0,001       | 0,008          | 1,008<br>(1,002 - 1,014) |
|                                           | IOT       | 313 | 63,1 ± 14,7 |              |                |                          |
| Saturação O2 na<br>admissão*              | Não IOT   | 643 | 91,8 ± 6,2  | <0,001       | 0,019          | 0,988<br>(0,978 - 0,998) |
|                                           | IOT       | 312 | 89 ± 8,2    |              |                |                          |
| Dias de sintomas<br>antes da admissão***  | > 7       | 536 | 138 (25,7%) | <0,001       | <0,001         | 1,64<br>(1,37 - 1,96)    |
|                                           | ≤ 7       | 414 | 172 (41,5%) |              |                |                          |
| Número de<br>comorbidades***              | < 3       | 668 | 178 (26,6%) | <0,001       | 0,001          | 1,39<br>(1,14 - 1,70)    |
|                                           | 3 ou mais | 287 | 135 (47%)   |              |                |                          |
| Neutrófilos/<br>Linfócitos <sup>(a)</sup> | <7        | 486 | 119 (22%)   | <0,001       | <0,001         | 2,09<br>(1,70 - 2,57)    |
|                                           | ≥7        | 469 | 194 (46,7%) |              |                |                          |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald, p<0,05

\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajustes de curvas ROC.

<sup>(a)</sup> Pontos de corte definidos pelo ajuste de uma curva ROC (área abaixo da curva: 0,66, p<0,001)

#### 1.4 RNL como preditor de ÓBITO

Dos 955 pacientes analisados, 213 faleceram no internamento.

- **Análise quantitativa**

Houve associação direta entre valores da RNL e o desfecho de óbito (p <0,001) na população estudada, independentemente da idade (anos), da saturação de oxigênio na admissão (%), dos dias de sintomas antes da admissão (≤ 7 dias ou >7 dias) ou do número de comorbidades (até 3; 3 ou mais).

O acréscimo de cada unidade na RNL resultou no aumento de 2% no risco de óbito durante o internamento pela COVID-19 (RR=1,02;  $p < 0,001$ ).

**TABELA 6 – RNL X DESFECHO DE ÓBITO - QUANTITATIVA**

| Variável                           | Classif   | n   | Óbito       |              |                 |                 |
|------------------------------------|-----------|-----|-------------|--------------|-----------------|-----------------|
|                                    |           |     | Descritiva  | p*<br>(univ) | p**<br>(multiv) | RR (IC95%)      |
| Idade (anos)                       | Não óbito | 742 | 54,8 ± 15,7 |              |                 | 1,030           |
|                                    | Óbito     | 213 | 69,5 ± 15   | <0,001       | <0,001          | (1,021 - 1,038) |
| Saturação O2 na admissão           | Não óbito | 742 | 92,2 ± 5,2  |              |                 | 0,98            |
|                                    | Óbito     | 213 | 88,6 ± 9    | <0,001       | <0,001          | (0,97 - 0,99)   |
| Dias de sintomas antes da admissão | > 7       | 536 | 89 (16,6%)  |              |                 | 1,51            |
|                                    | ≤ 7       | 414 | 120 (29,0%) | <0,001       | <0,001          | (1,20 - 1,91)   |
| Número de comorbidades             | < 3       | 668 | 94 (14,1%)  |              |                 | 1,66            |
|                                    | 3 ou mais | 287 | 119 (41,5%) | <0,001       | <0,001          | (1,29 - 2,13)   |
| Neutrófilos/<br>Linfócitos         | Não óbito | 742 | 8,7 ± 8,7   |              |                 | 1,02            |
|                                    | Óbito     | 213 | 13,1 ± 11,4 | <0,001       | <0,001          | (1,01 - 1,03)   |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

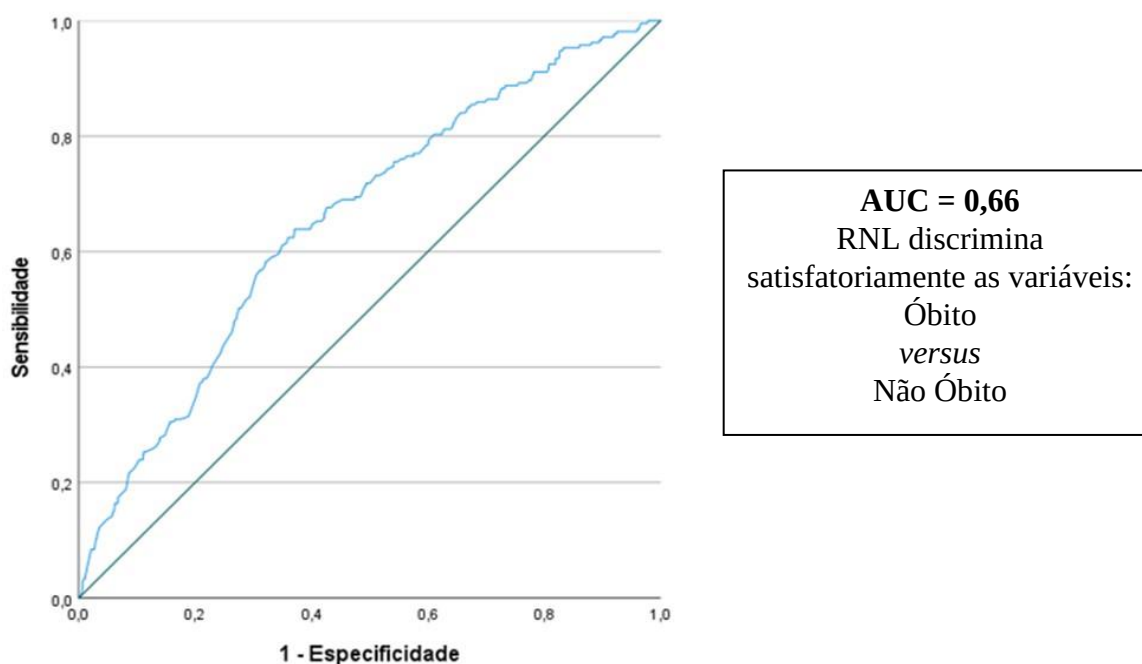
\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald,  $p < 0,05$

\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajuste de ROC.

#### • Avaliação de pontos de corte para RNL associados ao desfecho de ÓBITO

O ponto de corte de RNL indicado pela curva ROC para o desfecho de óbito foi igual a 8. Valores <8 corresponderam ao não óbito e valores ≥ 8 corresponderam ao óbito. A área sob a curva ROC (AUC) foi 0,66.

Em relação às propriedades do teste, o ponto de corte de 8 para RNL mostrou-se 63,8% sensível e 62,4% específico na predição de óbito. A acurácia foi de 62,7% e o valor preditivo positivo (VPP) de 32,8%. O valor preditivo negativo (VPN), por sua vez, foi de 85,7%, conforme descrito na tabela 7.

**FIGURA 3 - CURVA de ROC – Sensibilidade x Especificidade – ÓBITO****TABELA 7 - PROPRIEDADES DO TESTE – RNL ( $\geq 8$ ) NA PREDIÇÃO DE ÓBITO**

| Neutrófilos/Linfócitos ( $\geq 8$ )<br>para o desfecho ÓBITO | Resultado | IC 95%        |
|--------------------------------------------------------------|-----------|---------------|
| Propriedades do teste                                        |           |               |
| Sensibilidade                                                | 63,8%     | 57,4% - 70,3% |
| Especificidade                                               | 62,4%     | 58,9% - 65,9% |
| Acurácia                                                     | 62,7%     | 59,7% - 65,8% |
| Valor preditivo positivo (VPP)                               | 32,8%     | 28,3% - 37,3% |
| Valor preditivo negativo (VPN)                               | 85,7%     | 82,8% - 88,7% |

Para os cálculos de VPP e VPN foi considerada a prevalência de óbito estimada pela amostra do estudo.

- Análise categórica**

Dos modelos ajustados considerando os valores de corte para RNL indicados ( $< 8$  ou  $\geq 8$ ), obtivemos um  $RR = 1,93$  ( $p < 0,001$ ), evidenciando que valores admissionais de RNL iguais ou maiores do que 8 sinalizaram 1,93 vezes mais risco de falecer pela doença quando comparados à valores menores do que 8, conforme evidenciado na tabela 8.

**TABELA 8 – RNL X DESFECHO DE ÓBITO - CATEGÓRICA**

| Variável                                          | Classif   | n          | Óbito              |                  |                  |                               |
|---------------------------------------------------|-----------|------------|--------------------|------------------|------------------|-------------------------------|
|                                                   |           |            | Descritiva         | p*<br>(univ)     | p*<br>(multiv)   | RR (IC95%)                    |
| Idade(anos)                                       | Não óbito | 742        | 54,8 ± 15,7        |                  |                  | 1,029<br>(1,021 - 1,037)      |
|                                                   | Óbito     | 213        | 69,5 ± 15          | <0,001           | <0,001           |                               |
| Saturação O2 na<br>admissão                       | Não óbito | 742        | 92,2 ± 5,2         |                  |                  | 0,98<br>(0,97 - 0,99)         |
|                                                   | Óbito     | 213        | 88,6 ± 9           | <0,001           | 0,003            |                               |
| Dias de sintomas<br>antes da admissão             | > 7       | 536        | 89 (16,6%)         |                  |                  | 1,55<br>(1,24 - 1,94)         |
|                                                   | ≤ 7       | 414        | 120 (29%)          | <0,001           | <0,001           |                               |
| Número de<br>comorbidades                         | < 3       | 668        | 94 (14,1%)         |                  |                  | 1,66<br>(1,3 - 2,12)          |
|                                                   | 3 ou mais | 287        | 119 (41,5%)        | <0,001           | <0,001           |                               |
| <b>Neutrófilos/<br/>Linfócitos <sup>(a)</sup></b> | <8        | <b>540</b> | <b>77 (14,3%)</b>  | <b>&lt;0,001</b> | <b>&lt;0,001</b> | <b>1,93<br/>(1,52 - 2,47)</b> |
|                                                   | ≥8        | <b>415</b> | <b>136 (32,8%)</b> |                  |                  |                               |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald, p<0,05

\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajuste de curvas ROC

<sup>(a)</sup> Ponto de corte definido pelo ajuste de uma curva ROC (área abaixo da curva: 0,68, p<0,001).

## 1.5 RNL como preditor de IOT/ÓBITO COMBINADOS

Dos 955 pacientes analisados, 35,7% necessitaram de IOT e/ou faleceram. 64,3% não foram intubados nem faleceram no internamento hospitalar pela COVID-19.

### • Análise quantitativa

Houve associação direta entre valores da RNL e o ao desfecho de necessidade e IOT e/ou ÓBITO combinados, independentemente da idade (anos), da saturação de oxigênio na admissão (%), dos dias de sintomas antes da admissão (≤ 7 dias ou >7 dias) ou do número de comorbidades (até 3; 3 ou mais).

O acréscimo de cada unidade na RNL resultou no aumento de 2% no risco de necessitar de IOT e/ou falecer pela doença (tabela 9).

**TABELA 9 – RNL X DESFECHO COMBINADO IOT/ÓBITO - QUANTITATIVA**

| Variável                                 | Classif              | n          | Desfecho combinado (IOT e óbito) |                  |                  |                               |
|------------------------------------------|----------------------|------------|----------------------------------|------------------|------------------|-------------------------------|
|                                          |                      |            | Descritiva                       | p*<br>(univ)     | p*<br>(multiv)   | RR<br>(IC95%)                 |
| Idade (anos)                             | Não IOT/óbito        | 615        | 54,4 ± 16,2                      |                  |                  |                               |
|                                          | IOT/óbito            | 340        | 64,7 ± 15,6                      | <0,001           | <0,001           | 1,015<br>(1,009 - 1,021)      |
| Saturação O2 na<br>admissão              | Não IOT/óbito        | 618        | 92,2 ± 5,2                       |                  |                  |                               |
|                                          | IOT/óbito            | 337        | 88,6 ± 9                         | <0,001           | <0,001           | 0,98<br>(0,97 - 0,99)         |
| Dias de sintomas<br>antes da<br>admissão | ≤ 7                  | 536        | 151 (28,2%)                      |                  |                  |                               |
|                                          | > 7                  | 414        | 185 (44,7%)                      | <0,001           | <0,001           | 1,49<br>(1,26 - 1,77)         |
| Número de<br>comorbidades                | < 3                  | 668        | 188 (28,1%)                      |                  |                  |                               |
|                                          | 3 ou mais            | 287        | 152 (53%)                        | <0,001           | <0,001           | 1,34<br>(1,12 - 1,60)         |
| <b>Neutrófilos/<br/>Linfócitos</b>       | <b>Não IOT/óbito</b> | <b>615</b> | <b>8,0 ± 7,6</b>                 | <b>&lt;0,001</b> | <b>&lt;0,001</b> | <b>1,02<br/>(1,01 - 1,03)</b> |
|                                          | <b>IOT/óbito</b>     | <b>340</b> | <b>12,7 ± 11,7</b>               |                  |                  |                               |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

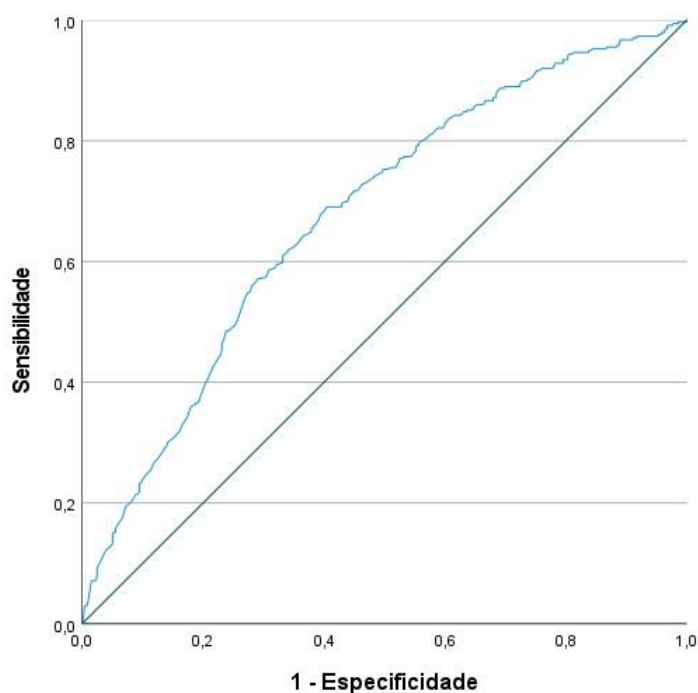
\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald, p<0,05

\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajuste de curvas ROC

• **Avaliação de pontos de corte para RNL associados aos desfechos combinados**

O ponto de corte indicado pela curva ROC para o desfecho IOT/ÓBITO combinados foi igual a 7. Valores <7 corresponderam a “não IOT e não óbito” e valores ≥ 7 corresponderam a “IOT e/ou óbito”. A área sob a curva ROC foi igual a 0,68.

Em relação às propriedades do teste, o ponto de corte de 7 para RNL mostrou-se 67,1% sensível e 60,8% específico na predição de IOT e/ou óbito. A acurácia foi de 63% e o valor preditivo positivo (VPP) de 48,6%. O valor preditivo negativo (VPN), por sua vez, foi de 77%, conforme descrito na tabela 10.

**FIGURA 4 - CURVA DE ROC – Sensibilidade x Especificidade - IOT/ÓBITO**

**AUC = 0,68**  
 RNL discrimina  
 satisfatoriamente as variáveis  
 não IOT e não óbito  
*versus*  
 IOT e/ou Óbito

**TABELA 10 - PROPRIEDADES DO TESTE – RNL ( $\geq 7$ ) PREDIÇÃO DE IOT E/OU ÓBITO**

| <b>Neutrófilos/Linfócitos (<math>\geq 7</math>)<br/>para o desfecho ÓBITO</b> | <b>Resultado</b> | <b>IC 95%</b> |
|-------------------------------------------------------------------------------|------------------|---------------|
| <b>Propriedades do teste</b>                                                  |                  |               |
| <b>Sensibilidade</b>                                                          | 67,1%            | 62,1% - 72,1% |
| <b>Especificidade</b>                                                         | 60,8%            | 57% - 64,7%   |
| <b>Acurácia</b>                                                               | 63,0%            | 60% - 66,1%   |
| <b>Valor preditivo positivo (VPP)</b>                                         | 48,6%            | 44,1% - 53,1% |
| <b>Valor preditivo negativo (VPN)</b>                                         | 77,0%            | 73,2% - 80,7% |

Para os cálculos de VPP e VPN foi considerada a prevalência de IOT e/ou Óbito estimada pela amostra do estudo.

- Análise categórica**

Conforme análise ajustada para valores de RNL segundo pontos de corte provenientes das curvas ROC ( $<7$  ou  $\geq 7$ ) para os desfechos combinados, pacientes cujos valores admissionais de RNL foram iguais ou maiores do que 7 sinalizaram 1,93 vezes mais risco de evoluir com necessidade IOT e/ou óbito quando comparados àqueles com RNL  $<7$  (RR = 1,93;  $p < 0,001$ ), de acordo com resultados descritos na tabela 11.

**TABELA 11 – RNL X DESFECHO COMBINADO IOT/ÓBITO - CATEGÓRICA**

| Variável                                          | Classif       | n          | Desfecho combinado (IOT e óbito) |                  |                    |                               |
|---------------------------------------------------|---------------|------------|----------------------------------|------------------|--------------------|-------------------------------|
|                                                   |               |            | Descritiva                       | p*<br>(univ)     | p*<br>(multi<br>v) | RR (IC95%)                    |
| Idade(anos)                                       | Não IOT/óbito | 615        | 54,4 ± 16,2                      |                  |                    |                               |
|                                                   | IOT/óbito     | 340        | 64,7 ± 15,6                      | <0,001           | <0,001             | 1,014<br>(1,008-1,020)        |
| Saturação O2 na<br>admissão                       | Não IOT/óbito | 618        | 92,2 ± 5,2                       |                  |                    |                               |
|                                                   | IOT/óbito     | 337        | 88,6 ± 9,0                       | <0,001           | <0,001             | 0,99<br>(0,98 - 0,99)         |
| Dias de sintomas<br>antes da admissão             | ≤ 7           | 536        | 151 (28,2%)                      |                  |                    |                               |
|                                                   | > 7           | 414        | 185 (44,7%)                      | <0,001           | <0,001             | 1,55<br>(1,31 - 1,83)         |
| Número de<br>comorbidades                         | < 3           | 668        | 188 (28,1%)                      |                  |                    |                               |
|                                                   | 3 ou mais     | 287        | 152 (53%)                        | <0,001           | <0,001             | 1,36<br>(1,14 - 1,62)         |
| <b>Neutrófilos<br/>/Linfócitos <sup>(a)</sup></b> | <7            | <b>540</b> | <b>132 (24,4%)</b>               | <b>&lt;0,001</b> | <b>&lt;0,001</b>   | <b>1,93<br/>(1,59 - 2,33)</b> |
|                                                   | ≥7            | <b>415</b> | <b>208 (50,1%)</b>               |                  |                    |                               |

\*Média ± desvio padrão ou frequência (percentual)

\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald, p<0,05

\*\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades foram definidos por ajuste de curvas ROC

<sup>(a)</sup> Ponto de corte definido pelo ajuste de uma curva ROC (área abaixo da curva: 0,68, p<0,001).

## 2. CORRELAÇÃO DA RNL E VARIÁVEIS RELATIVAS ÀS CITOCINAS

### 2.1 Amostra final

A partir da seleção dos 955 pacientes previamente descrita, foram excluídos aqueles que não possuíam informações referentes à dosagem de citocinas séricas em prontuários eletrônicos. Ao final, 245 pacientes foram incluídos por apresentarem registros sobre a coleta e resultados laboratoriais de pelo menos uma citocina (IL-4, IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , IL15, IL-1b), os quais compuseram a amostra final para análise da correlação entre a RNL e as variáveis relativas às citocinas, conforme fluxograma de seleção (figura 1)

## 2.2 Estatísticas descritivas de variáveis demográficas e clínicas

Participaram 245 pacientes, sendo 64,1% do sexo masculino, com média de idade de  $55,3 \pm 16,2$  anos. 38,3% eram idosos (60 anos ou mais). Na população estudada, 43,3% possuíam 3 ou mais comorbidades. A hipertensão arterial foi mais prevalente (39,6%), seguida por obesidade (31,6%), diabetes (21,6%) e dislipidemia (20,1%). Asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) foram relatadas por 4,9% e 3,7% dos pacientes, respectivamente.

Quanto aos dias de sintomas que antecederam a admissão hospitalar, 51,2% dos pacientes afirmaram que já apresentavam sintomas gripais há mais de 7 dias antes do internamento pela COVID-19. Ainda, quase 70% dos pacientes apresentaram saturação de oxigênio (SpO<sub>2</sub>) <95% na admissão hospitalar.

Em relação aos desfechos clínicos, dos 245 pacientes desta amostra, 33,6% necessitaram de intubação orotraqueal, ao passo que 23,3% faleceram no internamento hospitalar, conforme sumarizado na tabela 12.

**TABELA 12 – VARIÁVEIS DEMOGRÁFICAS E CLÍNICAS – CITOCINAS**

| Variável                   | n   | Classificação   | n             | %              |
|----------------------------|-----|-----------------|---------------|----------------|
| Idade (anos)*              | 245 | $55,3 \pm 16,2$ | 151 < 60 anos | 61,6%          |
|                            |     |                 | 94 ≥ 60 anos  | 38,3%          |
| Sexo                       | 245 | Feminino        | 88            | 35,9           |
|                            |     | Masculino       | 157           | 64,1           |
| Saturação na admissão*     | 245 |                 |               | $90,6 \pm 7,0$ |
|                            |     | <95%            | 171           | 69,6           |
|                            |     | ≥95%            | 74            | 30,4           |
| Tempo de sintomas (dias)** | 245 | ≤ 7             | 119           | 48,8           |
|                            |     | > 7             | 126           | 51,2           |
| Necessidade de IOT         | 245 | Não             | 163           | 66,4           |
|                            |     | Sim             | 82            | 33,6           |



|                                           |     |           |     |       |
|-------------------------------------------|-----|-----------|-----|-------|
| Desfecho                                  | 245 | Alta      | 188 | 76,7  |
|                                           |     | Óbito     | 57  | 23,3  |
| Número de comorbidades**                  | 245 | <3        | 139 | 56,7  |
|                                           |     | 3 ou mais | 106 | 43,3  |
| Hipertensão arterial sistêmica (HAS)      | 245 | Sim       | 97  | 39,6% |
| Diabetes mellitus (DM)                    | 245 | Sim       | 53  | 21,6% |
| Insuficiência cardíaca                    | 245 | Sim       | 12  | 4,9%  |
| Doença arterial coronariana (DAC)         | 245 | Sim       | 13  | 5,3%  |
| Infarto agudo do miocárdio (IAM)          | 245 | Sim       | 11  | 4,5%  |
| Acidente vascular encefálico (AVE)        | 245 | Sim       | 4   | 1,6%  |
| Doença arterial periférica                | 245 | Sim       | 6   | 2,4%  |
| Arritmia                                  | 245 | Sim       | 12  | 4,9%  |
| Asma                                      | 245 | Sim       | 12  | 4,9%  |
| Doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC) | 245 | Sim       | 9   | 3,7%  |
| Anemia                                    | 245 | Sim       | 9   | 3,7%  |
| Demência                                  | 245 | Sim       | 7   | 2,9%  |
| Dislipidemia                              | 244 | Sim       | 49  | 20,1% |
| Obesidade                                 | 244 | Sim       | 77  | 31,6% |

\*média ± desvio padrão; valor mínimo-valor máximo

\*\*Pontos de corte para dias de sintoma antes da admissão e número de comorbidades definidos pelo ajuste de curvas ROC.

Em relação aos resultados laboratoriais identificados retrospectivamente para RNL e as citocinas inflamatórias IL-6, IL-10, IFN- $\gamma$ , IL-4, TNF- $\alpha$ , IL-15 e IL-1b, viu-se que a mediana da RNL na população estudada foi de 6,75, atingindo valor máximo de 44,5 e mínimo de 0,41. Os valores séricos obtidos para cada uma das citocinas estão descritos na tabela 13.

**TABELA 13 – VARIÁVEIS DESCRITIVAS – RNL E CITOCINAS – SÉRICOS**

| <b>Variável</b>                        | <b>n</b> | <b>Mediana (min - max)</b> |
|----------------------------------------|----------|----------------------------|
| <b>Neutrófilos/Linfócitos</b>          | 245      | 6,75 (0,41 - 44,5)         |
| <b>IL-6 (pg/mL)</b>                    | 243      | 9,73 (2,14 - 88,6)         |
| <b>IL-10 (pg/mL)</b>                   | 241      | 7,13 (1,88 - 183,3)        |
| <b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b> | 243      | 6,04 (0,74 - 84,5)         |
| <b>IL-4 (pg/mL)</b>                    | 241      | 5,93 (2,52 - 48,2)         |
| <b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b> | 244      | 7,45 (1,72 - 75,6)         |
| <b>IL-15 (pg/mL)</b>                   | 231      | 7,67 (1,60 - 37,9)         |
| <b>IL-1b (pg/mL)</b>                   | 226      | 8,45 (4,98 - 41,3)         |

\*Mediana (mínimo-máximo)

Destaca-se que, assim como na primeira análise, a medida de RNL considerada foi a resultante da coletada na admissão hospitalar. Para valores séricos das citocinas, consideramos a primeira coleta do paciente no respectivo internamento por COVID-19.

### **2.3 Correlação entre a RNL x IL-6; IL-10; IFN- $\gamma$ ; IL-4; TNF- $\alpha$ , IL-15 e IL-1b**

#### **• Análise quantitativa**

As citocinas inflamatórias positivamente correlacionadas com a RNL foram: IL-6; IFN- $\gamma$ ; IL-4 e IL-1b ( $p < 0,05$ ). No entanto, tais correlações foram classificadas como fracas, de acordo com valores de  $|r| < 0,50$  resultantes. Não foram identificadas correlações entre a RNL e as citocinas IL-10; TNF- $\alpha$  e IL-15 ( $p > 0,05$ ).

Os coeficientes de correlação de Spearman estimados e os valores de  $p$  dos testes estatísticos estão descritos na tabela 14.

**TABELA 14 – CORRELAÇÃO ENTRE RNL X CITOCINAS - QUANTITATIVA**

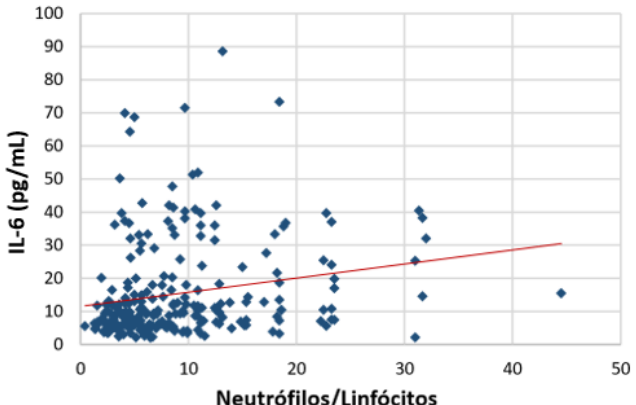
| Variáveis                                    | n   | Coefficiente de correlação de Spearman** | p*     |
|----------------------------------------------|-----|------------------------------------------|--------|
| Neutrófilos/Linfócitos x IL-6 pg/mL          | 243 | 0,28                                     | <0,001 |
| Neutrófilos/Linfócitos x IL-10 pg/mL         | 241 | -0,10                                    | 0,106  |
| Neutrófilos/Linfócitos x IFN- $\gamma$ pg/mL | 243 | 0,15                                     | 0,020  |
| Neutrófilos/Linfócitos x IL-4 pg/mL          | 241 | 0,17                                     | 0,008  |
| Neutrófilos/Linfócitos x TNF- $\alpha$ pg/mL | 244 | 0,05                                     | 0,403  |
| Neutrófilos/Linfócitos x IL-15 pg/mL         | 231 | 0,05                                     | 0,469  |
| Neutrófilos/Linfócitos x IL-1b pg/mL         | 226 | 0,21                                     | 0,002  |

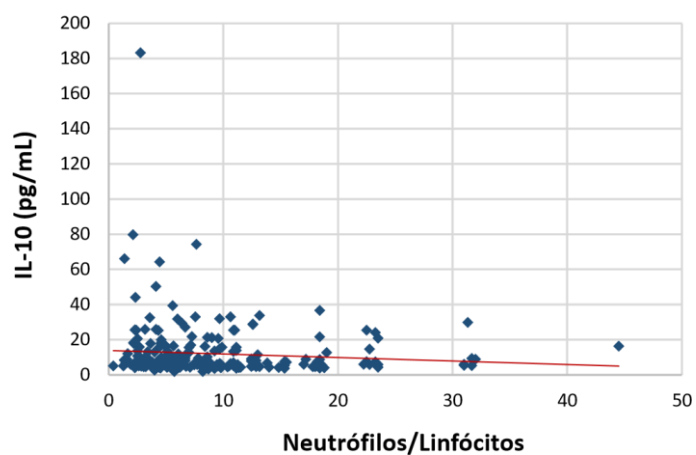
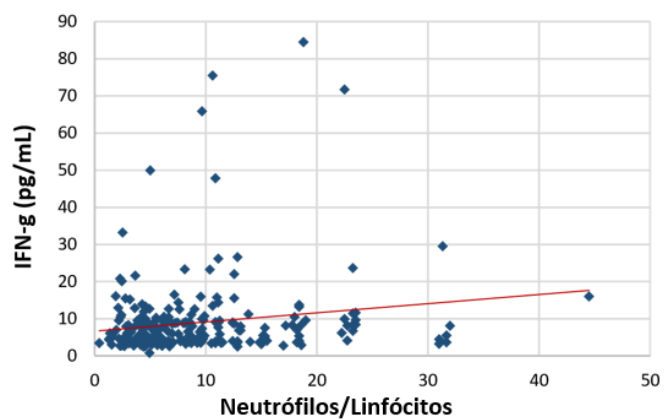
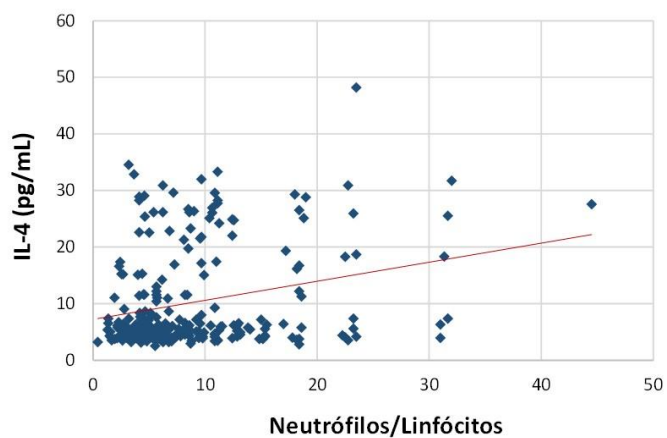
\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald,  $p < 0,05$

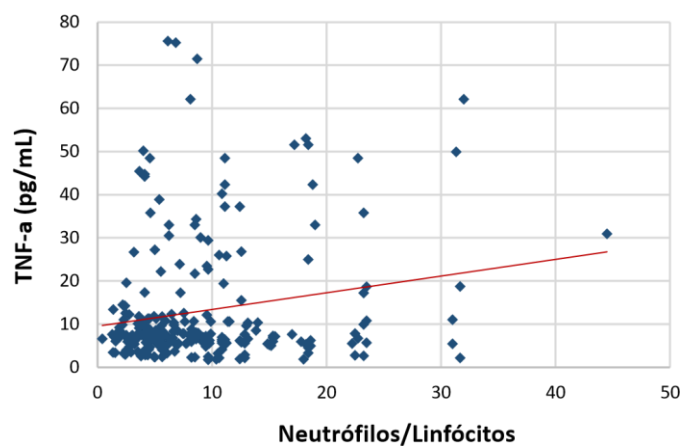
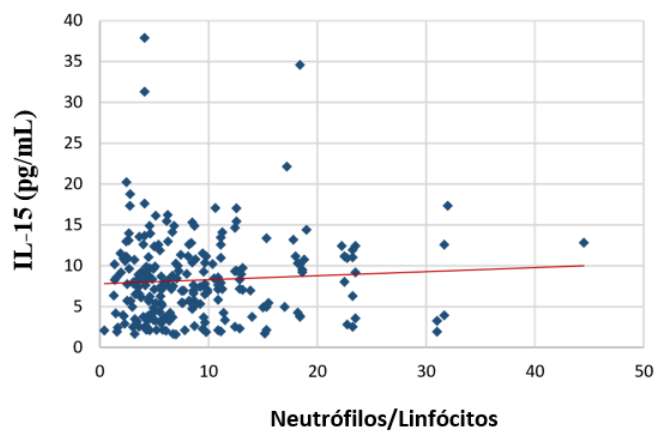
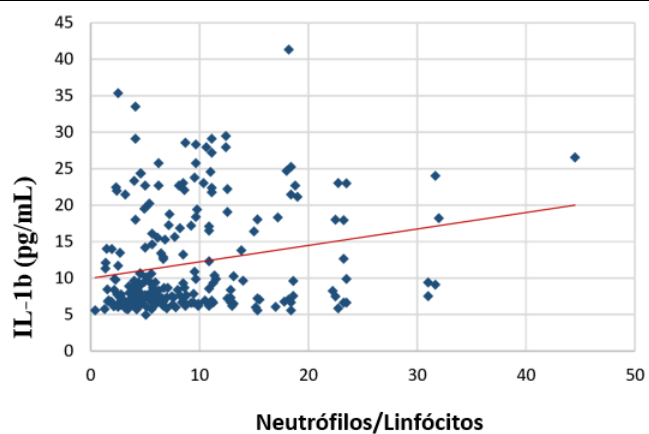
\*\* Coeficiente de correlação de Spearman (cs)

Para cada uma das análises descritas, foram traçados Diagramas de Dispersão (Tabela 15), nos quais cada ponto correspondeu a um paciente avaliado na amostra. As coordenadas são os resultados classificados de cada variável, sendo o eixo horizontal representado pelos valores de RNL e o eixo vertical pelos valores séricos da citocina em questão. A linha traçada representa a tendência de correlação entre as variáveis.

**TABELA 15 – DIAGRAMAS DE DISPERSÃO RNL X CITOCINAS**

| VARIÁVEIS CORRELACIONADAS | DIAGRAMAS DE DISPERSÃO                                                                                                |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| RNL x IL-6                |  <p>BAIXA CORRELAÇÃO POSITIVA</p> |

**RNL x IL-10****AUSÊNCIA DE CORRELAÇÃO****RNL x IFN- $\gamma$** **BAIXA CORRELAÇÃO POSITIVA****RNL x IL-4****BAIXA CORRELAÇÃO POSITIVA**

**RNL x TNF- $\alpha$** **AUSÊNCIA DE CORRELAÇÃO****RNL x IL-15****AUSÊNCIA DE CORRELAÇÃO****RNL x IL-1b****BAIXA CORRELAÇÃO POSITIVA**

• **Análise categórica**

Utilizou-se o ponto de corte encontrado para RNL nos desfechos de IOT/ÓBITO combinados ( $<7$  ou  $\geq 7$ ) para categorizar dois grupos de acordo com tais intervalos e compará-los a cada uma das citocinas inflamatórias.

A análise comparativa demonstrou diferença estatisticamente significativa entre os grupos definidos pela variável RNL ( $<7$  ou  $\geq 7$ ) e as citocinas IL-6; IFN- $\gamma$ ; IL-4 e IL-1b ( $p<0,05$ ), conforme demonstrado na tabela 16.

**TABELA 16 – COMPARAÇÃO DOS GRUPOS DEFINIDOS PELA VARIÁVEL RNL ( $< 7$  OU  $\geq 7$ ) EM RELAÇÃO ÀS CITOCINAS**

| Variável              | RNL <sup>(a)</sup> | n   | Mediana<br>(min - max) | p*     |
|-----------------------|--------------------|-----|------------------------|--------|
| IL-6 (pg/mL)          | $< 7$              | 123 | 8,3 (2,1 - 70)         | <0,001 |
|                       | $\geq 7$           | 120 | 11,8 (2,2 - 88,6)      |        |
| IL-10 (pg/mL)         | $< 7$              | 123 | 7,9 (1,9 - 183,3)      | 0,227  |
|                       | $\geq 7$           | 118 | 6,5 (1,9 - 74,3)       |        |
| IFN- $\gamma$ (pg/mL) | $< 7$              | 123 | 4,8 (0,7 - 50,0)       | 0,005  |
|                       | $\geq 7$           | 120 | 7,5 (2,5 - 84,5)       |        |
| IL-4 (pg/mL)          | $< 7$              | 124 | 5,5 (2,5 - 34,5)       | 0,016  |
|                       | $\geq 7$           | 117 | 6,2 (2,8 - 48,2)       |        |
| TNF- $\alpha$ (pg/mL) | $< 7$              | 124 | 7,2 (2,3 - 75,6)       | 0,449  |
|                       | $\geq 7$           | 120 | 7,6 (1,7 - 71,5)       |        |
| IL-15 (pg/mL)         | $< 7$              | 119 | 7,6 (1,6 - 37,9)       | 0,336  |
|                       | $\geq 7$           | 112 | 8,0 (1,6 - 34,6)       |        |
| IL-1b (pg/mL)         | $< 7$              | 116 | 7,9 (5,0 - 35,4)       | 0,011  |
|                       | $\geq 7$           | 110 | 9,5 (5,6 - 41,3)       |        |

\*Média  $\pm$  desvio padrão; valor mínimo-valor máximo

\*\*Modelo de Regressão de Poisson e teste de Wald,  $p<0,05$

<sup>(a)</sup> Ponto de corte definido pelo ajuste de uma curva ROC (área abaixo da curva: 0,68,  $p<0,001$ )

## DISCUSSÃO

Em nosso estudo, a análise multivariada confirmou o papel da RNL como preditor independente do risco de intubação orotraqueal e/ou óbito nos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, internados no Hospital Marcelino Champagnat, em Curitiba, entre março de 2020 e agosto de 2021. Cabe salientar que o HMC foi o primeiro hospital a receber pacientes graves com COVID-19 no Paraná, e possui 126 leitos de internação e 70 leitos de UTI, sendo considerado um serviço de referência no estado.

Os resultados demonstraram que, independentemente das variáveis clínicas consideradas, o acréscimo de cada unidade na RNL resultou no aumento de 2% no risco de IOT e em 2% no risco de óbito. O valor mediano de RNL na população estudada foi de 6,8, resultado considerado elevado se comparado aos intervalos de corte utilizados na predição de desfechos negativos em outras patologias, a exemplo da pior sobrevida em algumas neoplasias e miosites/dermatomiosites, marcadas respectivamente por  $RNL > 4$  e  $RNL > 4,7$ , além de mortalidade intra-hospitalar e complicações no sistema nervoso central em pacientes com endocardite, sinalizada por valores de  $RNL > 7,1$ <sup>57,59,61,62,63</sup>.

Destaca-se, ainda, que o valor máximo da relação neutrófilos-linfócitos encontrado em nossa amostra foi de 44,5, refletindo o alto grau de inflamação e a expressiva redução de linfócitos e elevação dos neutrófilos característicos da doença, alterações previamente correlacionadas à desfechos negativos nos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2<sup>30,31,40,41,47,48</sup>.

Nesse aspecto, quando pensamos na utilização de um exame laboratorial na prática médica, é necessário que exista um valor de referência a ser aplicado e interpretado. Na revisão de literatura que permeou esta dissertação, foram encontrados, para o contexto da

COVID-19, valores de RNL estimados entre 3,13 e 4,5 para prever gravidade, e entre 6,5 e 15,2 na predição de mortalidade pela doença<sup>29,31,46,52,53,54</sup>. Não constava na bibliografia, porém, uma definição precisa de valores de corte a serem incorporados na rotina clínica.

Dessa forma, nossa pesquisa preencheu uma parte da lacuna identificada nos estudos já publicados sobre o tema e propôs valores de corte precisos para o RNL a serem aplicados em dois importantes desfechos da doença. Com base nos resultados obtidos, pode-se afirmar que, para pacientes maiores de 18 anos admitidos no ambiente hospitalar com COVID-19, valores admissionais de  $RNL \geq 7$  sinalizam um risco duas vezes maior de necessitar de IOT em comparação aos pacientes cujos valores de RNL foram menores do que 7, com VPP de 45,2% e VPN de 79,2%. Da mesma forma, valores de  $RNL \geq 8$  no hemograma admissional marcaram 1,93 vezes mais risco de óbito pela doença, com VPP e VPN de 32,8% e 85,7%, respectivamente.

Ao comparar os resultados deste estudo com a bibliografia já publicada, viu-se que o ponto corte de 7 encontrado para RNL na predição de IOT foi significativamente mais elevado do que os propostos por outros autores. Isso pode ser explicado pelo número de pacientes, perfil populacional da amostra, definição de gravidade e metodologia utilizada em cada pesquisa. O estudo que propôs valores de  $RNL \geq 4,5$  para gravidade, por exemplo, consiste em uma metanálise com 19 estudos significativamente heterogêneos, englobando diferentes populações expostas a variáveis distintas, tornando os valores definidos para RNL propensos a múltiplos fatores de confusão<sup>31</sup>. Da mesma forma, o estudo que sugeriu a utilização de valores de  $RNL > 3,13$  em maiores de 50 anos como preditor de risco para doença crítica - caracterizada pela presença de insuficiência respiratória com necessidade de suporte ventilatório invasivo, choque/falência de múltiplos órgãos e/ou admissão em UTI -,



acrescentou o fator da idade ao critério de avaliação, o que pode justificar resultados mais baixos para o biomarcador<sup>46</sup>.

Os valores de corte para  $RNL \geq 8$ , definidos como preditores de mortalidade em nossa análise, por sua vez, foram mais baixos do que os sugeridos pela maioria dos estudos publicados. No entanto, os artigos que propuseram valores de  $RNL > 13$  e  $RNL > 15,2$  para esse mesmo desfecho avaliaram, respectivamente, 125 e 121 pacientes, amostras significativamente menores do que a de nosso estudo. Essa diferença no intervalo de corte para RNL na predição de mortalidade pode ser justificada por esse fato<sup>52,54</sup>.

Sendo assim, tal descoberta possibilita a incorporação da relação neutrófilos-linfócitos na prática clínica como um biomarcador precoce independente para tais desfechos na COVID-19 para pacientes internados em ambiente hospitalar. Destaca-se, ainda, que a obtenção da RNL depende unicamente do hemograma, um exame laboratorial altamente disponível, de rápido resultado e baixo custo no Brasil<sup>33</sup>.

### ***RNL x Citocinas***

Em relação à associação entre a RNL e as citocinas inflamatórias, os resultados desta pesquisa indicaram fraca correlação positiva entre a RNL e as citocinas IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-1b, enquanto nenhuma correlação significativa foi encontrada entre a RNL e as citocinas IL-10, IL-15 e TNF- $\alpha$ . Entretanto, tendo em vista que a tempestade de citocinas desempenha um papel crucial na gravidade da doença e seu desequilíbrio pode levar à ativação dos neutrófilos e à depleção dos linfócitos – e consequente elevação da RNL –, o baixo grau de correlação encontrado entre as duas variáveis não correspondeu ao resultado esperado e requer melhor compreensão.

Nesse aspecto, é importante considerar a possibilidade de interferência do momento da doença em que as interleucinas foram interpretadas, uma vez que o pico de ação das citocinas ocorre entre o 7º e o 14º, e as coletas de material biológico dos pacientes incluídos em nossa amostra foi realizada entre o 1º e o 7º dia de internamento, sendo que pouco mais da metade referiu início dos sintomas há 7 ou mais dias antes do internamento pela COVID-19<sup>24,67</sup>. Apesar de ser uma medida subjetiva, pode-se considerar que 43,5% dos pacientes ainda não estavam dentro da janela na qual as citocinas atingem seus valores máximos, o que pode prejudicar os resultados e subestimar o grau de correlação entre as variáveis.

Com o objetivo de aprimorar a análise, realizamos uma comparação entre grupos definidos pelos valores de corte de RNL ( $< 7$ ;  $\geq 7$ ) em relação às citocinas, a qual demonstrou resultados estatisticamente significativos para IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-1b. Esses achados permitem afirmar que valores de RNL menores que 7 estão associados a menores níveis séricos de IL-4, IL-6, IFN- $\gamma$  e IL-1b, enquanto valores admissionais de RNL maiores ou iguais a 7 associam-se a níveis mais elevados dessas citocinas inflamatórias. A correlação mais expressiva encontrada nesta análise foi entre a RNL e IL-6, o que corrobora com o mecanismo de ação do Tocilizumabe, que atua como inibidor competitivo da sinalização mediada pela IL-6. Nosso achado pode, eventualmente, sugerir o uso deste medicamento para pacientes com valores admissionais de RNL superiores a 7.

Ainda sobre o papel das citocinas na COVID-19, dados na literatura destacam a ação fundamental de IL-6 e IL-10 na mediação da resposta de fase aguda, sugerindo a utilização de seus valores séricos como biomarcadores precoces de gravidade e mau prognóstico da doença<sup>44,64,65</sup>. No entanto, adentrando ao cenário brasileiro, a utilização de citocinas como biomarcadores de gravidade na prática clínica nem sempre é viável, uma vez que suas dosagens séricas dessas são complexas, não estão contempladas pela tabela SUS e a maioria

dos serviços de saúde no Brasil não possui recursos ou laboratórios equipados para realizá-las. Além disso, as citocinas são moléculas de meia-vida curta e exigem coletas minuciosas, nem sempre expressando resultados precisos sobre o estado inflamatório do paciente submetido ao exame<sup>10,11,22,33,44,67</sup>. Diante do exposto, nosso estudo destaca a importância de novas pesquisas que visem à identificação de biomarcadores acessíveis que estabeleçam correlação com as citocinas inflamatórias e, consequentemente, permitam a identificação indireta de proteínas e possíveis alvos de tratamento da COVID-19.

### ***Considerações finais***

Vale ressaltar que durante o período analisado em nosso estudo (março/2020 a agosto/2021), houve dois momentos distintos da pandemia, diferenciados pelo início da vacinação e pela aprovação do uso emergencial de algumas medicações para o tratamento da COVID-19. Em Curitiba, a campanha de vacinação contra a doença foi oficialmente iniciada em 20 de janeiro de 2021 e, até 31 de agosto do mesmo ano, pouco mais de 67% da população havia recebido pelo menos uma dose do imunizante<sup>5</sup>. Com relação aos medicamentos que poderiam interferir na RNL, a dexametasona começou a ser empregada em pacientes com COVID-19 a partir de junho de 2020, enquanto o Tocilizumabe obteve aprovação emergencial da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) em 12 de janeiro de 2021<sup>14,15</sup>. Em nossa amostra, entretanto, o biomarcador foi avaliado no momento da admissão hospitalar, antes de qualquer intervenção, o que nos permite prever que não houve interferência significativa de tratamentos específicos nos resultados da análise proposta. Do ponto de vista da vacinação, uma avaliação comparativa entre os períodos será realizada futuramente em estudos complementares.

Ao final desta pesquisa, os objetivos propostos foram atingidos e a RNL foi identificada como um preditor de desfechos negativos na COVID-19 a ser incorporado na prática clínica, estando fracamente correlacionado, no momento da admissão hospitalar, à via de resposta imune ao vírus mediada por citocinas inflamatórias. Esses resultados permitem que novos estudos complementares sejam realizados, possibilitando a compreensão cada vez mais apurada sobre os mecanismos de patogenicidade das infecções pelo SARS-CoV-2, a fim de propor terapias que reduzam morbimortalidade e, consequentemente, custos sociais e econômicos à saúde da população.

### ***Limitações do estudo***

Este estudo apresenta limitações que devem ser consideradas, como o viés de seleção, visto que a amostra é proveniente de um único centro hospitalar privado e conveniado, o qual não contempla o Sistema Único de Saúde (SUS) e pode não representar a população geral de indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2, embora esse fato possa tornar a amostra mais homogênea em relação à renda e acesso à saúde.

Ademais, em nossa análise multivariada, não foram consideradas as medicações de uso contínuo prévias ao internamento, o que pode eventualmente ter afetado os valores de neutrófilos e linfócitos basais dos pacientes. Nessa mesma lógica, a vacinação contra a COVID-19 pode desencadear a ativação de linfócitos T e B, alterando a contagem de linfócitos e, consequentemente, o valor da NLR. Vale destacar que os nossos dados representam um momento de surto inicial da pandemia, e o viés temporal e possíveis interferências das variantes de preocupação (VOCs) do SARS-CoV-2 devem ser consideradas.

Outra limitação diz respeito à falta de controle sobre as intervenções realizadas pelos profissionais de saúde durante o internamento, bem como a impossibilidade de estabelecer correlações entre todas as variáveis. É importante salientar que estudos observacionais como este não estabelecem causalidade, mas podem identificar associações entre variáveis.

Dos pontos positivos do estudo, destacamos a amostra expressiva de 955 pacientes, a quantidade relevante de informações coletadas sobre cada indivíduo, as análises estatísticas uni e multivariada detalhadamente realizadas e a definição de pontos de corte para predição precoce de intubação orotraqueal e óbito, dois desfechos de grande relevância nas infecções pelo SARS-CoV-2.

## CONCLUSÃO

Apesar da redução substancial nos casos de infecção e das melhorias significativas no cenário pandêmico, o SARS-CoV-2 permanece em circulação e vem sofrendo mutações constantes. Portanto, é crucial identificar os preditores de gravidade da doença, que permitam a identificação precoce dos pacientes com maior risco de desfechos clínicos desfavoráveis e possibilitem intervenções terapêuticas precoces e baseadas em evidência.

Em nosso estudo, a relação neutrófilos-linfócitos obtida no hemograma admissional de pacientes internados pela COVID-19 foi identificada como preditor independente da possível evolução para intubação orotraqueal e óbito. Valores de corte foram propostos e medidas da RNL maiores ou iguais a 7 apontaram maior risco de necessitar de ventilação mecânica, enquanto medidas de  $RNL \geq 8$  sinalizaram maior risco de mortalidade pela doença. A incorporação desse biomarcador como preditor precoce de desfechos negativos na COVID-19 foi recomendada e pode auxiliar os profissionais de saúde nas tomadas de decisão, permitindo intervenções mais assertivas e melhor gestão dos recursos hospitalares.

Determinou-se a existência de fraca correlação positiva entre a RNL e as citocinas inflamatórias IL-6, IFN- $\gamma$ , IL-4 e IL-1b. Valores de  $RNL < 7$  foram associados a menores valores de tais citocinas, enquanto valores iguais ou superiores a 7 demonstraram associação com valores mais elevados das citocinas. Esses resultados abrem caminho para novas linhas de pesquisa e reiteram a necessidade de aprimorar o entendimento sobre as particularidades da resposta imune ao SARS-CoV-2, com destaque para identificação de biomarcadores acessíveis que guardem correlação com uma ou mais interleucinas específicas, podendo auxiliar na descoberta de alvos terapêuticos e no desenvolvimento de medicamentos para tratamento da COVID-19.

## **PERSPECTIVAS E CONTRIBUIÇÃO ORIGINAL PARA A CIÊNCIA**

O presente estudo, estruturado em uma coorte observacional retrospectiva com 955 pacientes hospitalizados, foi um dos pioneiros no Brasil a propor a utilização da relação neutrófilos-linfócitos na COVID-19, tendo sido o primeiro a buscar correlações entre este biomarcador e as citocinas inflamatórias envolvidas na resposta imune ao SARS-CoV-2. Como resultado, comprovamos que a relação neutrófilos-linfócitos pode ser utilizada como um preditor precoce do risco de óbito e da necessidade de ventilação mecânica em pacientes internados com a doença.

Nesse aspecto, a utilização da RNL como um biomarcador precoce de gravidade muito contribui para a ciência, especialmente por ser resultado da dosagem de um exame altamente disponível e de baixo custo no Brasil, podendo ser facilmente incorporado nos serviços públicos e privados, atuando como ferramenta para definições de condutas mais assertivas e baseadas em evidência.

Aliado a isso, com base na detalhada análise estatística realizada, propusemos valores de corte para RNL a serem aplicados na prática clínica, colaborando para avaliação precoce do risco de IOT e óbito dos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2. Esse achado preenche uma lacuna evidenciada na revisão de literatura sobre a temática.

Por fim, a identificação da fraca correlação entre a RNL citocinas inflamatórias abre caminho para novas linhas de pesquisa sobre os mecanismos associados à hiperinflamação na COVID-19. Apesar do papel da tempestade de citocinas na destruição tecidual e gravidade das infecções por SARS-CoV-2 estar bem definido, as vias de ativação que levam à produção destas citocinas e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de formas graves da doença ainda não foram totalmente elucidados.

## REFERÊNCIAS

1. WHO. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. World Health Organization. 2020. Available from: <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>
2. Johns Hopkins University and Medicine. Coronavirus Resource Center. Coronavirus COVID-19 Global Cases by the Center for Systems Science and Engineering (CSSE) at Johns Hopkins University (JHU) [Internet]. Baltimore, MD: Johns Hopkins University and Medicine; [dez 2022]. Disponível em: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>.
3. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico Especial: COVID-19 | Secretaria de Vigilância em Saúde | Ministério da Saúde Semana Epidemiológica. Brasília, 2022.
4. Rede Genômica COVID-19 [Internet]. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2021 [atualizado 2021 Jun 1; acessado 2022 Dez 6]. Disponível em: <https://www.genomahcov.fiocruz.br/dashboard-pt/>.
5. Consórcio de veículos de imprensa a partir de dados das secretarias estaduais de Saúde. Monitoramento da vacinação contra Covid-19 no Brasil. Disponível em: <https://www.coronavirusnobrasil.org/>. Acesso em: [jan 2023].
6. WHO. Global excess deaths associated with COVID-19, January 2020 - December 2021 [Internet]. [www.who.int](http://www.who.int). Available from: <https://www.who.int/data/stories/global-excess-deaths-associated-with-covid-19-january-2020-december-2021>.
7. Methods for estimating the excess mortality associated with the COVID-19 pandemic World Health Organisation [Internet]. 2022. Available from: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/world-health-data-platform/covid-19-excessmortality/who\\_methods\\_for\\_estimating\\_the\\_excess\\_mortality\\_associated\\_with\\_the\\_covid-19\\_pandemic.pdf?sfvrsn=5a05fa76\\_1&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/world-health-data-platform/covid-19-excessmortality/who_methods_for_estimating_the_excess_mortality_associated_with_the_covid-19_pandemic.pdf?sfvrsn=5a05fa76_1&download=true)
8. Goyal P, Choi JJ, Pinheiro LC, Schenck EJ, Chen R, Jabri A, et al. Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City. New England Journal of Medicine. 2020 Apr 17;



9. Lippi G, Plebani M. Laboratory abnormalities in patients with COVID-2019 infection. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020 Mar 3;0(0).
10. Keddie S, Ziff O, Chou MKL, Taylor RL, Heslegrave A, Garr E, et al. Laboratory biomarkers associated with COVID-19 severity and management. *Clinical Immunology*. 2020 Dec;221:108614.
11. Zeng F, Huang Y, Guo Y, Yin M, Chen X, Xiao L, et al. Association of inflammatory markers with the severity of COVID-19: A meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases* [Internet]. 2020 Jul 1;96:467–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971220303623>
12. Semiz S. COVID19 biomarkers: What did we learn from systematic reviews? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022 Dec 13
13. Bernheim A, Mei X, Huang M, Yang Y, Fayad ZA, Zhang N, et al. Chest CT Findings in Coronavirus Disease-19 (COVID-19): Relationship to Duration of Infection. *Radiology*. 2020 Feb 20;295(3):200463.
14. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19 — Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*. 2020 Jul 17;384(8):693–704.
15. Gupta S, Wang W, Hayek SS, Chan L, Mathews KS, Melamed ML, et al. Association Between Early Treatment with Tocilizumab and Mortality Among Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA Internal Medicine*. 2021 Jan 1;181(1):41.
16. Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, et al. Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Preliminary Report. *New England Journal of Medicine*. 2020 May 22;383(19)
17. Liu J, Pan X, Zhang S, Li M, Ma K, Fan C, et al. Efficacy and safety of Paxlovid in severe adult patients with SARS-Cov-2 infection: a multicenter randomized controlled study. *The Lancet Regional Health – Western Pacific* [Internet]. 2023 Feb 5 [cited 2023 Mar 10];0(0). Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lanwpc/article/PIIS2666-6065\(23\)00012-3/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lanwpc/article/PIIS2666-6065(23)00012-3/fulltext)

18. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China. *JAMA*. 2020 Feb 24;323(13).
19. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet*. 2020 Jan 24;395(10223):497–506.
20. World Health Organization. Clinical management of COVID-19: living guideline. Geneva: World Health Organization; 2023. Disponible em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/365580/WHO-2019-nCoV-clinical-2023.1-eng.pdf>
21. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, Crawford JM, McGinn T, Davidson KW, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA*. 2020 Apr 22;323(20).
22. Xu Z, Li S, Tian S, Li H, Kong L. Full spectrum of COVID-19 severity still being depicted. *The Lancet* [Internet]. 2020 Feb; Available from: [https://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736\(20\)30308-1.pdf](https://www.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140-6736(20)30308-1.pdf)
23. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, et al. Dysregulation of immune response in patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Clinical Infectious Diseases*. 2020 Mar 12;71(15):762–8.
24. Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews* [Internet]. 2020 May 7;53. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7204669/#bib0190>
25. Naumenko V, Turk M, Jenne CN, Kim S-J. Neutrophils in viral infection. *Cell and Tissue Research*. 2018 Jan 11;371(3):505–16.
26. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet* [Internet]. 2020 Mar 28;395(10229):1033–4. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(20\)30628-0/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(20)30628-0/fulltext)

27. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2020 Jul 10;11. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7365923/>
28. Liu R, Wang Y, Li J, Han H, Xia Z, Liu F, et al. Decreased T cell populations contribute to the increased severity of COVID-19. *Clinica Chimica Acta*. 2020 Sep;508:110–4.
29. Alkhatip AAAMM, Kamel MG, Hamza MK, Farag EM, Yassin HM, Elayashy M, et al. The diagnostic and prognostic role of neutrophil-to-lymphocyte ratio in COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Expert Review of Molecular Diagnostics*. 2021 Apr 25;21(5):505–14.
30. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang Y-Q, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal Transduction and Targeted Therapy* [Internet]. 2020 Mar 27;5(1):1–3.
31. Li X, Liu C, Mao Z, Xiao M, Wang L, Qi S, et al. Predictive values of neutrophil-to-lymphocyte ratio on disease severity and mortality in COVID-19 patients: a systematic review and meta-analysis. *Critical Care*. 2020 Nov 16;24(1).
32. Zhang Z-L, Hou Y-L, Li D-T, Li F-Z. Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2020 May 23;80(6):441–7.
33. SIGTAP - Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos, Medicamentos e OPM do SUS [Internet]. [sigtap.datasus.gov.br](http://sigtap.datasus.gov.br). Available from: <http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/inicio.jsp>
34. Kanaan S. Laboratório com interpretações clínicas. 1a ed. Rio de Janeiro: Atheneu; 2019.
35. Lippi G, South AM, Henry BM. Electrolyte imbalances in patients with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Annals of Clinical Biochemistry: International Journal of Laboratory Medicine*. 2020 May;57(3):262–5.
36. Woller SC, de Wit K, Robert-Ebadi H, Masias C, Klok FA, den Exter PL, et al. A systematic review of biomarkers among hospitalized patients with COVID-19 predictive of venous thromboembolism: A communication from the Predictive and Diagnostic

Variables Scientific and Standardization Committee of the ISTH. Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis 2022 Aug 1 Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36032214/>

37. Neri B, Parente A, Lima E, Almeida M, Picanço M, Filho P, et al. ANÁLISE DA alteração do D-DÍMERO em pacientes com COVID-19. Hematology, Transfusion and Cell Therapy [Internet]. 2021 Oct 1 [cited 2022 May 21];43:S239–40. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137921005538>
38. Costa, L. G., Souza, P. I. M., Pereira, M., & Neto, M. M. S. (2022). Alterações hematológicas em pacientes com COVID-19: revisão sistemática e metanálise. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, 44, S655-S656.
39. Giannis D, Ziogas IA, Gianni P. Coagulation disorders in coronavirus infected patients: COVID-19, SARS-CoV-1, MERS-CoV and lessons from the past. Journal of Clinical Virology. 2020 Apr;127:104362.
40. Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. The Lancet. 2020 Mar;395(10229):1054–62.
41. Zhao Q, Meng M, Kumar R, Wu Y, Huang J, Deng Y, et al. Lymphopenia is associated with severe coronavirus disease 2019 (COVID-19) infections: A systemic review and meta-analysis. International Journal of Infectious Diseases. 2020 Jul;96:131–5.
42. Liu Z, Long W, Tu M, Chen S, Huang Y, Wang S, et al. Lymphocyte subset (CD4+, CD8+) counts reflect the severity of infection and predict the clinical outcomes in patients with COVID-19. Journal of Infection. 2020 Apr
43. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. Lymphocytes and the Cellular Basis of Adaptive Immunity [Internet]. Nih.gov. Garland Science; 2015
44. Wang J, Jiang M, Chen X, Montaner LJ. Cytokine storm and leukocyte changes in mild versus severe SARS-CoV-2 infection: Review of 3939 COVID-19 patients in China and emerging pathogenesis and therapy concepts. Journal of Leukocyte Biology. 2020 Jun 13;108(1):17–41.

45. Li L, Li R, Wu Z, Yang X, Zhao M, Liu J, et al. Therapeutic strategies for critically ill patients with COVID-19. *Annals of Intensive Care*. 2020 Apr 20;10(1)
46. Liu J, Liu Y, Xiang P, Pu L, Xiong H, Li C, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts critical illness patients with 2019 coronavirus disease in the early stage. *Journal of Translational Medicine*. 2020 May 20;18(1).
47. Veras FP, Pontelli MC, Silva CM, Toller-Kawahisa JE, de Lima M, Nascimento DC, et al. SARS-CoV-2-triggered neutrophil extracellular traps mediate COVID-19 pathology. *The Journal of Experimental Medicine* [Internet]. 2020 Sep 14;217(12). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7488868/>
48. Middleton EA, He X-Y, Denorme F, Campbell RA, Ng D, Salvatore SP, et al. Neutrophil extracellular traps contribute to immunothrombosis in COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *Blood* [Internet]. 2020 Sep 3 [cited 2021 Feb 2];136(10):1169–79. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32597954/>
49. Matthay MA, Zemans RL. The Acute Respiratory Distress Syndrome: Pathogenesis and Treatment. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011 Feb 28;6(1):147–63.
50. Wichmann D, Sperhake J-P, Lütgehetmann M, Steurer S, Edler C, Heinemann A, et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19. *Annals of Internal Medicine*. 2020 May 6;173(4).
51. Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *New England Journal of Medicine*. 2020 May 21;383(2).
52. Ramos-Peñafiel CO, Santos-González B, Flores-López EN, Galván-Flores F, Hernández-Vázquez L, Santoyo-Sánchez A, et al. Utilidad de los índices neutrófilo/linfocito, monocito/linfocito y linfocito/plaqueta para el pronóstico de complicaciones asociadas a COVID-19. *Gaceta de Mexico*. 2020 Oct 8;156(5)
53. Yan X, Li F, Wang X, Yan J, Zhu F, Tang S, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio as prognostic and predictive factor in patients with coronavirus disease 2019: A

- retrospective cross-sectional study. *Journal of Medical Virology*. 2020 Jun 9;92(11):2573–81
54. de Oliveira DC, Spiri BS, Schluga YC, Justus JLP, Neto FDNL, de Azambuja AP. Evaluation of lymphocyte count, T-cell subsets and neutrophil-to-lymphocyte ratio as early predictors for severity and outcome of COVID-19 disease-a report from a highly complex hospital in Brazil. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy* [Internet]. 2022 Jun 29 [cited 2023 Mar 7]; Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35782909/>
  55. Lazar Neto F, Salzstein GA, Cortez AL, Bastos TL, Baptista FVD, Moreira JA, et al. Comparative assessment of mortality risk factors between admission and follow-up models among patients hospitalized with COVID-19. *International journal of infectious diseases: IJID: official publication of the International Society for Infectious Diseases* [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2023 Mar 7];105:723–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33711524/>
  56. Sproston NR, Ashworth JJ. Role of C-Reactive Protein at Sites of Inflammation and Infection. *Frontiers in Immunology* [Internet]. 2018 Apr 13;9(754). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5908901/>
  57. Turak O, Özcan F, İşleyen A, Başar FN, Gül M, Yilmaz S, et al. Usefulness of neutrophil-to-lymphocyte ratio to predict in-hospital outcomes in infective endocarditis. *The Canadian Journal of Cardiology* [Internet]. 2013 Dec 1 [cited 2023 Mar 8];29(12):1672–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23916736/>
  58. Qi X, Dong Y, Lin X, Xin W. Value of Neutrophil to Lymphocyte Ratio, Platelet to Lymphocyte Ratio, and Red Blood Cell Distribution Width in Evaluating the Prognosis of Children with Severe Pneumonia. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* [Internet]. 2021 Sep 24 [cited 2021 Nov 10];2021:e1818469. Available from: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2021/1818469/>
  59. Iliaz S, Iliaz R, Ortakoylu G, Bahadir A, Bagci B, Caglar E. Value of neutrophil/lymphocyte ratio in the differential diagnosis of sarcoidosis and tuberculosis. *Annals of Thoracic Medicine* [Internet]. 2014. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4166071/>

60. Zazula AD, Précoma-Neto D, Gomes AM, Krukliis H, Barbieri GF, Forte RY, et al. Avaliação da relação neutrófilos/linfócitos em pacientes com suspeita de síndrome coronariana aguda. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 2008 Jan;90(1).
61. Ha Y-J, Hur J, Go DJ, Kang EH, Park JK, Lee EY, et al. Baseline peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio could predict survival in patients with adult polymyositis and dermatomyositis: A retrospective observational study. Kuwana M, editor. *PLOS ONE*. 2018 Jan 2;13(1):e0190411.
62. Naszai M, Kurjan A, Maughan TS. The prognostic utility of pre-treatment neutrophil-to-lymphocyte-ratio (NLR) in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Cancer Medicine* [Internet]. 2021 Jul 26; 10(17):5983–97. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8419761/>
63. Templeton AJ, McNamara MG, Šeruga B, Vera-Badillo FE, Aneja P, Ocaña A, et al. Prognostic Role of Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio in Solid Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2014 May 29;106(6).
64. Han H, Ma Q, Li C, Liu R, Zhao L, Wang W, et al. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging Microbes & Infections*. 2020 Jan 1;9(1):1123–30.
65. Tan M, Liu Y, Zhou R, Deng X, Li F, Liang K, et al. Immunopathological characteristics of coronavirus disease 2019 cases in Guangzhou, China. *Immunology* [Internet]. 2020 Jul 1;160(3):261–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7283723/>
66. Zhang B, Zhou X, Qiu Y, Song Y, Feng F, Feng J, et al. Clinical characteristics of 82 cases of death from COVID-19. Jin X, editor. *PLOS ONE*. 2020 Jul 9;15(7):e0235458.
67. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang H-H, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2020 Nov 2];26(10):1636–43. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-1051-9>

68. Liu J, Li S, Liu J, Liang B, Wang X, Wang H, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients. *EBioMedicine* [Internet]. 2020 May 1;55:102763. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352396420301389#fig0003>
  
69. Zhang B, Zhou X, Zhu C, Song Y, Feng F, Qiu Y, et al. Immune Phenotyping Based on the Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio and IgG Level Predicts Disease Severity and Outcome for Patients With COVID-19. *Frontiers in Molecular Biosciences* [Internet]. 2020;7:157. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32719810/>
  
70. Fluss R, Faraggi D, Reiser B. Estimation of the Youden Index and its associated cutoff point. *Biometrical Journal Biometrische Zeitschrift* [Internet]. 2005 Aug 1;47(4):458–72. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16161804/>
  
71. Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi Medical Journal: The Journal of Medical Association of Malawi* [Internet]. 2012 Sep 1;24(3):69–71. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23638278/>



## APÊNDICES

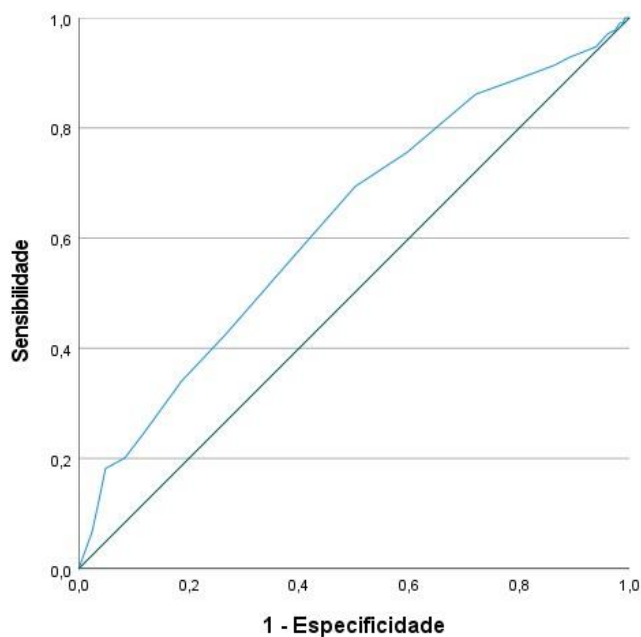
### ANÁLISES ESTATÍSTICAS COMPLEMENTARES

1. Avaliação de pontos de corte para dias de sintomas antes da admissão e número de comorbidades associados ao desfecho de óbito

- **Dias de sintomas antes da admissão**

Para investigar a existência de um ponto de corte para dias de sintomas antes da admissão que esteja associado ao desfecho de óbito foi ajustada uma curva ROC considerando o número de dias de sintomas antes da admissão e óbito (não ou sim). A área abaixo da curva é igual a 0,63 com significância estatística ( $p < 0,001$ ), ou seja, o ajuste é bom e “dias de sintomas antes da admissão” está associada a óbito.

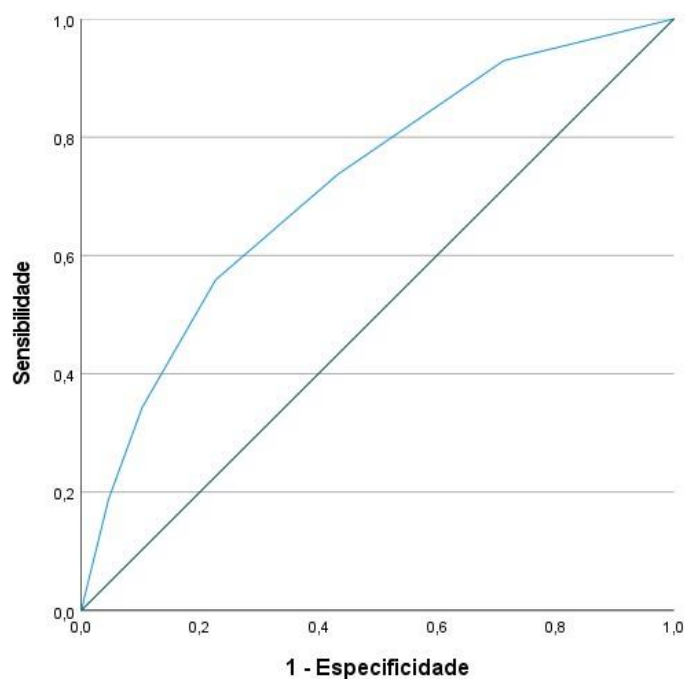
O ponto de corte indicado pela curva ROC é igual a 7. Valores  $\leq 7$  correspondem a óbito e valores  $> 7$  correspondem a não óbito. A sensibilidade e especificidade deste ponto de corte são iguais a 57,4% e 60,3%, respectivamente.



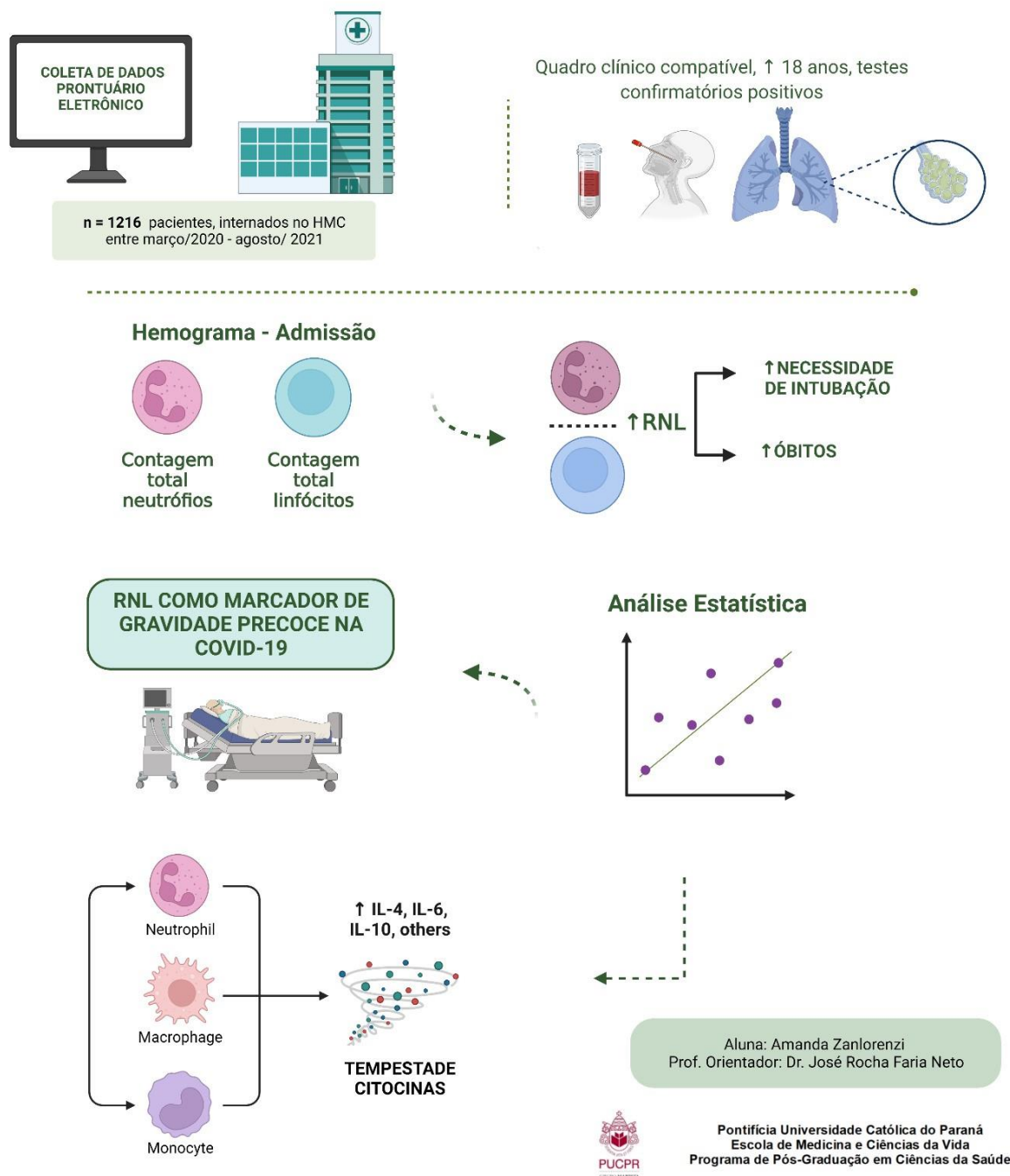
- **Número de comorbidades**

Para investigar a existência de um ponto de corte para número de comorbidades que esteja associado ao desfecho de óbito foi ajustada uma curva ROC considerando o número de comorbidades e óbito (não ou sim). A área abaixo da curva é igual a 0,72 com significância estatística ( $p < 0,001$ ), ou seja, o ajuste é bom e “número de comorbidades” está associada a óbito.

O ponto de corte indicado pela curva ROC é igual a 3. Valores  $< 3$  correspondem a não óbito e valores  $\geq 3$  correspondem a óbito. A sensibilidade e especificidade deste ponto de corte são iguais a 55,9% e 77,4%, respectivamente.



## MAPA METODOLOGIA CIENTÍFICA



Fonte: Elaboração própria, 2022.

## ANEXOS

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - CÓPIAS

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE | Maior de 18 anos

#### **Estudo: "Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR - COVID.19"**

1. Estou sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do estudo “Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR” e que tem como objetivo descrever a evolução dos casos internados suspeitos e confirmados de COVID-19 em Curitiba durante a pandemia de 2020. Acreditamos que ela seja importante porque informações sobre a evolução dos casos suspeitos da doença são de grande valor clínico e científico, ajudando a tomada de decisão e compreensão dessa nova doença que tem afetado o mundo inteiro. PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO Minha participação no estudo será de permitir a observação e análise de meu prontuário médico assim como eventualmente me submeter a exames de imagem ou laboratoriais como hemogramas (exame de sangue), análise do perfil celular (coleta de sangue), dosagem de biomarcadores inflamatório (coleta de soro), ecocardiogramas (ultrassom do coração), ecocardiografia, prezando sempre pelo bem-estar do paciente. RISCOS E BENEFÍCIOS Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como benefícios indiretos de contribuição para a compreensão da pandemia e o enfrentamento de possíveis novas epidemias. Recebi, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos como os riscos inerentes ao tratamento de rotina do paciente, ou seja os mesmos aos quais o paciente se submete durante o seu tratamento participando ou não do estudo, dentre os quais temos flebite, hematomas associados a leve desconforto no local da coleta do hemograma. Dos quais medidas serão tomadas para sua redução, tais como o cumprimento dos protocolos hospitalares instituídos para a execução de cada exame, a coleta dos exames ser feita por pessoal capacitado. SIGILO E PRIVACIDADE Estou ciente de minha privacidade respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma me identificar será mantido em sigilo. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados de pesquisa. AUTONOMIA É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Também fui informado de que posso recusar a participar no estudo, ou retirar o consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, este não sofrerá qualquer prejuízo à assistência que vem sendo recebida. RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO Todas as despesas serão de responsabilidade dos Pesquisadores. Os participantes da pesquisa bem como seu acompanhante (se houver) não arcarão com nenhum custo referente a procedimento, exames, transporte, alimentação ou outros. Caso ocorra qualquer despesa, haverá ressarcimento dos valores gastos na forma seguinte: depósito em conta. De igual maneira, caso ocorra algum dano decorrente da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado. CONTATO Os pesquisadores envolvidos com o estudo são Juliano Gasparetto, Cristina Baena Anna Flavia Miggiolaro, Felipe Tuon, Andrea Moreno, Lucia de Noronha, Thyago Moraes, Lidia Moura, José Faria, Gustavo Lenci, que são pesquisadores e professores na Escola de Medicina da PUCPR e com eles poderei manter contato pelos telefones (41)3271-2979 . O Conselho Nacional de Pesquisa (CONEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o CONEP pelo telefone (61)3315-5877 entre segunda e sexta-feira das 08h às 18h ou pelo e-mail [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br) Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, Lote D 3º andar Brasília.

DISPONÍVEL VIA FORMULÁRIO ONLINE:

[https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=w\\_YeiiSDA0G\\_ShMoxdw2U1Zjpu1\\_uLdAs9bHg0RV5tpUQUJWNFZJWDZLUVJWWEtZRTNVS1pQVzBNNi4u](https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=w_YeiiSDA0G_ShMoxdw2U1Zjpu1_uLdAs9bHg0RV5tpUQUJWNFZJWDZLUVJWWEtZRTNVS1pQVzBNNi4u)

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - TCLE | Menor de 18 anos/Incapaz de consentir

## **Estudo: "Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR - COVID.19"**

1. Estou sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar do estudo “Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR” e que tem como objetivo descrever a evolução dos casos internados suspeitos e confirmados de COVID-19 em Curitiba durante a pandemia de 2020. Acreditamos que ela seja importante porque informações sobre a evolução dos casos suspeitos da doença são de grande valor clínico e científico, ajudando a tomada de decisão e compreensão dessa nova doença que tem afetado o mundo inteiro.

**PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO** Minha participação no estudo será de permitir a observação e análise de meu prontuário médico assim como eventualmente me submeter a exames de imagem ou laboratoriais como hemogramas (exame de sangue), análise do perfil celular (coleta de sangue), dosagem de biomarcadores inflamatório (coleta de soro), ecocardiogramas (ultrassom do coração), ecocardiografia, prezando sempre pelo bem-estar do paciente.

**RISCOS E BENEFÍCIOS** Fui alertado de que, da pesquisa a se realizar, posso esperar alguns benefícios, tais como benefícios indiretos de contribuição para a compreensão da pandemia e o enfrentamento de possíveis novas epidemias. Recebi, também que é possível que aconteçam os seguintes desconfortos ou riscos como os riscos inerentes ao tratamento de rotina do paciente, ou seja os mesmos aos quais o paciente se submete durante o seu tratamento participando ou não do estudo, dentre os quais temos flebite, hematomas associado a leve desconforto no local da coleta do hemograma. Dos quais medidas serão tomadas para sua redução, tais como o cumprimento dos protocolos hospitalares instituídos para a execução de cada exame, a coleta dos exames ser feita por pessoal capacitado.

**SIGILO E PRIVACIDADE** Estou ciente de minha privacidade respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma me identificar será mantido em sigilo. Os pesquisadores se responsabilizam pela guarda e confidencialidade dos dados, bem como a não exposição dos dados de pesquisa.

**AUTONOMIA** É assegurada a assistência durante toda pesquisa, bem como me é garantido o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação. Também fui informado de que posso recusar a participar no estudo, ou retirar o consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e de, por desejar sair da pesquisa, este não sofrerá qualquer prejuízo à assistência que vem sendo recebida.

**RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO** Todas as despesas serão de responsabilidade dos Pesquisadores. Os participantes da pesquisa bem como seu acompanhante (se houver) não arcarão com nenhum custo referente a procedimento, exames, transporte, alimentação ou outros. Caso ocorra qualquer despesa, haverá ressarcimento dos valores gastos na forma seguinte: depósito em conta. Caso ocorra algum dano decorrente da minha da minha participação no estudo, serei devidamente indenizado.

**CONTATO** Os pesquisadores envolvidos com o estudo são Juliano Gasparetto, Cristina Baena Anna Flavia Miggiolaro, Felipe Tuon, Andrea Moreno, Lucia Noronha, Thyago Moraes, Lidia Moura, José Faria, Gustavo Lenci, que são pesquisadores e professores na Escola de Medicina da PUCPR e com eles poderei manter contato pelos telefones 041 3271-2979. O Conselho Nacional de Pesquisa (CONEP) é composto por um grupo de pessoas que estão trabalhando para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você achar que a pesquisa não está sendo realizada da forma como você imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma forma, você pode entrar em contato com o CONEP pelo telefone (61)3315-5877 entre segunda e sexta-feira das 08h às 18h ou pelo e-mail [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br) Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, Lote D 3º andar Brasília.

DISPONÍVEL VIA FORMULÁRIO ONLINE:

**[https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=w\\_YeiiSDA0G\\_ShMoxdw2U1Zjpu1\\_uLdAs9bHg0RV5tpUNzBWUEkxTkdpWVION1pLR0NCR1BQVFozSi4u&nocdn=1](https://forms.office.com/Pages/ResponsePage.aspx?id=w_YeiiSDA0G_ShMoxdw2U1Zjpu1_uLdAs9bHg0RV5tpUNzBWUEkxTkdpWVION1pLR0NCR1BQVFozSi4u&nocdn=1)**

## CERTIFICADOS

Este projeto de pesquisa foi premiado em 1º lugar na categoria Apresentação Oral, Menção Honrosa (PIBIC-MASTER) no XXX SEMIC (30º Seminário de Iniciação Científica da PUCPR) e XII SEMITI (12º Seminário de Iniciação Tecnológica e Inovação), realizado nos dias 25, 26 e 27 de outubro de 2022.



**DECLARAÇÃO**

Declaramos que o projeto "AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS-LINFÓCITOS COMO MARCADOR PRECOCE DE GRAVIDADE NAS INFECÇÕES POR COVID-19", apresentado pelo(a) estudante **Amanda Cristina Zanlorenzi** sob orientação do(a) Prof.(a) **Jose Rocha Faria Neto** foi premiado em **1º Lugar** na Categoria **Apresentação Oral, Menção Honrosa (PIBIC - Master)** no XXX Seminário de Iniciação Científica da PUCPR, realizado nos dias 25, 26, 27 de outubro de 2022.

Curitiba, 27 de outubro de 2022



**Coordenação de Iniciação Científica**

PROMOÇÃO E REALIZAÇÃO

PUCPR CNPq FUNDAÇÃO ARAUCÁRIA

PATROCÍNIO

CHAMEX FTD EDUCAÇÃO

# PIBIC

PROGRAMA INSTITUCIONAL  
DE BOLSAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA



## DECLARAÇÃO

Declaramos para os devidos fins que a pesquisa intitulada “AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO NEUTRÓFILOS-LINFÓCITOS COMO MARCADOR PRECOCE DE GRAVIDADE NAS INFECÇÕES POR COVID-19” foi realizada e concluída por **Amanda Cristina Zanlorenzi**, no Programa PIBIC Master da PUCPR, com bolsa PUCPR, na vigência 2021-2022, sendo orientado(a) por **Jose Rocha Faria Neto**. O(A) estudante teve dedicação de aproximadamente 20 horas semanais, perfazendo uma carga horária de 880 horas. Os resultados desta pesquisa foram apresentados, na(s) modalidade(s) de apresentação Oral e vídeo-pôster (no site do evento), no XXX SEMIC (Seminário de Iniciação Científica) da PUCPR que ocorreu nos dias 25, 26 e 27 de outubro de 2022.

Curitiba, 18 de novembro de 2022.



**Profa. Dra. Cleybe Vieira**  
Coordenadora da Iniciação Científica

Rua Imaculada Conceição, 1155 Prado Velho CEP 80215 901 Curitiba Paraná Brasil

Caixa Postal 17315 CEP 80242 980 Tel.: 3271-2112 Fax (41) 3271-1185

[www.pucpr.br](http://www.pucpr.br)

## COMPOSIÇÃO DA EQUIPE DO PROJETO

| <b>Nome</b>                      | <b>Formação/Função</b>                                                                                                                                                                                                                         | <b>Vinculação Institucional</b>                               |
|----------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>Jose Rocha Faria Neto</b>     | Médico, Doutor em Cardiologia e Pós-Doutor em Aterosclerose Orientador                                                                                                                                                                         | Professor da Graduação e do PPG em Ciências da Saúde da PUCPR |
| <b>Amanda C. Zanlorenzi</b>      | Médica<br>Mestranda pelo PPGCS da PUCPR                                                                                                                                                                                                        | Graduada em Medicina pela PUCPR<br>Aluna do PPGCS PUCPR       |
| <b>Andrea Novais Moreno</b>      | Mestre em Biologia Celular e doutora em Imunologia Básica e Aplicada. Colaboradora                                                                                                                                                             | Professora do PPG em Ciências da Saúde                        |
| <b>Cristina Pellegrino Baena</b> | Doutora em Ciências da Saúde, Pós-Doutora em projetos de prevenção primária e secundária de doenças crônicas<br>Coordenadora do estudo multicêntrico “COVID 19: Caracterização clínica e epidemiológica de pacientes atendidos em Curitiba PR” | Coordenadora e Professora do PPG em Ciências da Saúde         |
| <b>Márcia Olandoski</b>          | Mestre em Estatística, Doutora em Ciências da Saúde / Colaboradora                                                                                                                                                                             | Professora de Bioestatística da PUCPR                         |
| <b>Gabriella Pereira</b>         | Médica<br>Aluna do PIBIC do prof. Dr José Rocha Faria Neto                                                                                                                                                                                     | Graduada pela PUCPR                                           |
| <b>Rafael Maranhão Fabricio</b>  | Aluno do curso de Medicina<br>Aluno do PIBIC do prof. Dr José Rocha Faria Neto                                                                                                                                                                 | Acadêmico do curso de Medicina na PUCPR                       |