



ESCOLA BAHIANA DE MEDICINA E SAÚDE PÚBLICA
JOÃO VICTOR SIMÕES CASTRO PERRONE

**DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E DETERMINAÇÃO DA VARIANTE VIRAL
DE SARS-COV-2 EM CASOS FATAIS DE COVID-19 NA BAHIA**

Salvador

2022

JOÃO VICTOR SIMÕES CASTRO PERRONE

**DADOS DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E DETERMINAÇÃO DA VARIANTE VIRAL
DE SARS-COV-2 EM CASOS FATAIS DE COVID-19 NA BAHIA**

Trabalho apresentado ao curso de graduação em Medicina da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública como requisito parcial para aprovação no quarto ano do curso de Medicina.

Orientador: Dr. Geraldo Gileno de Sá Oliveira.

Salvador

2022

Dedico esse trabalho aos meus avós maternos, Deusdete Barbosa da Silva (*in memoriam*) e Mariana Simões de Castro Barbosa (*in memoriam*), e paternos, Edson Góes Perrone (*in memoriam*) e Sônia Falcão Perrone, os quais tenho certeza de que estão vibrando e torcendo por minhas conquistas de onde quer que estejam.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais Edgard Perrone Neto e Diana Cristina Simões Castro Barbosa, tais que foram inesgotável fonte de amor e apoio incondicional, que mesmo com todas as dificuldades e percalços da vida, foram capazes de me dispor das ferramentas adequadas para me desenvolver e, posteriormente, trilhar meu caminho com segurança, dedicação, foco e coragem, e o fizeram sem demais reticências.

Agradeço à equipe do Laboratório de Patologia Estrutural e Molecular (LAPEM) e do Instituto Gonçalo Moniz (IGM) – Fiocruz, em especial ao Dr. Geraldo Gileno de Sá Oliveira, importante mentor de minha trajetória acadêmica, que com postura firme, dedicação inspiradora e grande experiência, conduziu com maestria o meu desenvolvimento científico. Em adição, agradeço ao Dr. Carlos Gustavo Regis da Silva, Dra. Lilian Verena da Silva Carvalho, Fabiana Santana Souza e Leonardo Magalhães Andrade e Silva, por todos os ensinamentos, parcerias e trabalho destinado ao projeto.

Agradeço a minha namorada, Maria Clara Souza de Freitas, pela inabalável cumplicidade com a qual encaramos a vida e seus desafios, bem como por sempre caminhar ao meu lado, me apoiando e dando forças para alcançar meus objetivos. É uma grande fonte de inspiração e fiel conselheira, quem incansavelmente me motiva para seguir em frente e chegar mais longe do que eu poderia sozinho

Por último, agradeço a minha família e amigos, pela companhia leve e descontraída, compreensão acerca dos momentos de necessária ausência, conselhos valorosos e pela força transmitida para enfrentar os mais difíceis desafios. Em especial, agradeço a Gabriel Vianna Pereira Aragão, João Lucas Cabral Campos, Marllus Roberto Cunha dos Santos, Maria Carolina Santos de Moraes, Nathalia Magalhães Andrade e Silva e Tiago Rezende Neves, companheiros de jornada, que espero que perdurem pela vida, e que estão lado a lado nas batalhas diárias. Ainda em especial, agradeço a Pedro Savoy de Andrade, Gustavo Freitas de Sá Oliveira, Rodrigo César de Oliveira Silva, Augusto Sampaio Minho, Victor Fernandez Fingergut, Victor de Oliveira Hortélio, João Pedro Silva Gomes, Victor Nuñez de Sordi, Joaquim Afonso Bacellar Batista de Siqueira, Enrico Carazoli Pettinati, Juan Suarez de Sá Oliveira, Antônio de Lucca Guimarães Alves, Pedro Henrique Vieira da Costa Zulauf, Amanda Oliveira de Aragão e Roberta Boaventura Andrade, pela irmandade de longa data, sem a qual eu não seria quem sou hoje.

RESUMO

Introdução: COVID-19 é uma doença causada pelo coronavírus SARS-CoV-2, que desde o início de 2020, é responsável por uma pandemia. No Brasil, até o dia 06 de maio de 2022, foram registrados 30.524.183 casos e 664.131 óbitos. A infecção por SARS-CoV-2 pode apresentar um amplo espectro de manifestações clínicas, desde uma forma assintomática até formas graves e fatais. Provavelmente, o grande número de casos humanos da infecção favorece a evolução do vírus e, com isso, surgem novas cepas do SARS-CoV-2 que exibem uma maior transmissibilidade e/ou patogenicidade. Essas novas cepas virais foram denominadas de variantes e representam uma preocupação para a saúde pública. **Objetivo(os):** Descrever os dados demográficos, clínicos e laboratoriais e identificar a variante viral de preocupação em casos graves de COVID-19 no estado da Bahia. **Metodologia:** Foram estudados 14 pacientes severos de COVID-19 que evoluíram a óbito e posteriormente submetidos a autópsia minimamente invasiva. Nas autópsias foram coletados fragmentos dos pulmões que foram preservados para análise de RNA e DNA e posteriormente usados para a detecção e caracterização da variante viral. Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais foram coletados a partir de prontuário eletrônico do hospital em que os pacientes foram provenientes. **Resultados:** A média da idade dos pacientes foi de 59,5 (± 11.8) anos, sendo 71.4% eram homens e 100% se autodeclaravam pardos. Os pacientes eram procedentes de diversas regiões do estado da Bahia, sendo 8 provenientes de Salvador, seguido de Inhambupe, Conceição do Jacuípe, Santo Amaro da Purificação, Lauro de Freitas, Simões Filho e Monte Santo, com 1 paciente cada. O intervalo entre início dos sintomas e internamento hospitalar foi em média 7 (± 1.6) dias, com o tempo médio de doença de 21.4 (± 9.5) dias. O tempo que permaneceram internados teve como mediana 11 (IIQ 9.5) dias e o tempo de internação na UTI teve como mediana 10.5 (IIQ 8.75) dias. A comorbidade identificada mais prevalente foi a hipertensão arterial sistêmica, presente em 50% dos pacientes, seguida por obesidade em 42.8%. O sintoma mais prevalente foi dispneia em 85.7% dos casos, seguido por febre em 71.4%. Foi observada uma leucocitose com neutrofilia, além de trombocitose e valores elevados de RNI, ureia e creatinina. A variante viral identificada mais prevalente foi a Gamma (P.1), em 7 pacientes. Foram avaliadas as variantes virais em 9 casos. **Conclusão:** A maior parte dos pacientes foi formada por homens, acima dos 50 anos, com a presença de

comorbidades, que morreram principalmente por insuficiência respiratória aguda. Como sintomas mais frequentes, identificamos dispneia, febre, tosse, êmese e cefaleia, respectivamente. Os achados laboratoriais mais relevantes foram leucocitose com neutrofilia, trombocitose e RNI, ureia e creatinina elevados. Identificamos a variante Gamma (P.1) como a mais prevalente em nossa amostra, seguida pela variante Delta (B.1.617.2) e Zeta (P.2).

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, dados demográficos, dados clínicos, variante viral de preocupação.

ABSTRACT

Introduction: COVID-19 is a disease caused by the coronavirus SARS-CoV-2, which since the beginning of 2020, is responsible for a pandemic. In Brazil, as of May 6, 2022, 30,524,183 cases and 664,131 deaths have been reported. SARS-CoV-2 infection can present a wide spectrum of clinical manifestations, from an asymptomatic to severe and fatal forms. The large number of human cases of infection probably favors the evolution of the virus, and with it, new strains of SARS-CoV-2 that exhibit greater transmissibility and/or pathogenicity emerge. These new viral strains have been termed variants and represent a public health concern. **Objective(s):** To describe demographic, clinical and laboratory data and identify the viral variant of concern in severe cases of COVID-19 in the state of Bahia. **Methodology:** We studied 14 severe COVID-19 patients who died and subsequently underwent minimally invasive autopsy. Fragments of the lungs were collected at the autopsies and preserved for RNA and DNA analysis and subsequently used for viral variant detection and characterization. Demographic, clinical, and laboratory data were collected from electronic medical records from the hospital where the patients originated. **Results:** The mean age of the patients was 59.5 (\pm 11.8) years, 71.4% were male and 100% self-reported to be brown. The patients were from different regions of Bahia state, 8 coming from Salvador, followed by Inhambupe, Conceição do Jacuípe, Santo Amaro da Purificação, Lauro de Freitas, Simões Filho and Monte Santo, with 1 patient each. The interval between symptom onset and hospitalization was on average 7 (\pm 1.6) days, with a mean length of illness of 21.4 (\pm 9.5) days. The median length of stay was 11 (IIQ 9.5) days and the median length of ICU stay was 10.5 (IIQ 8.75) days. The most prevalent comorbidity was hypertension, present in 50% of patients, followed by obesity in 42.8%. The most prevalent symptom was dyspnea in 85.7% of cases, followed by fever in 71.4%. A leukocytosis with neutrophilia was observed, in addition to thrombocytosis and elevated INR, urea and creatinine values. The most prevalent identified viral variant was Gamma (P.1), in 7 patients. Viral variants were evaluated in 9 cases. **Conclusion:** Most patients were male, over 50 years old, with the presence of comorbidities, who died mainly from acute respiratory failure. The most frequent symptoms were dyspnea, fever, cough, emesis and headache, respectively. The most relevant laboratory findings were leukocytosis with neutrophilia, thrombocytosis, and elevated INR, urea,

and creatinine. We identified the Gamma variant (P.1) as the most prevalent in our sample, followed by the Delta variant (B.1.617.2) and Zeta variant (P.2).

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, demographic data, clinical data, viral variant of concern.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO | 9 |
| 2. OBJETIVOS | 11 |
| 3. REVISÃO DE LITERATURA | 12 |
| 4. METODOLOGIA..... | 15 |
| 4.1. Desenho do estudo | 15 |
| 4.2. Pacientes e Amostras | 15 |
| 4.3. Coleta de Dados Demográficos, Clínicos e Laboratoriais | 15 |
| 4.4. Análise Estatística | 16 |
| 4.5. Coleta de Amostras..... | 16 |
| 4.6. Caracterização das Variantes Virais | 17 |
| 4.7. Aspectos Éticos..... | 17 |
| 5. RESULTADOS | 18 |
| 5.1. Dados Demográficos..... | 18 |
| 5.2. Dados Clínicos | 21 |
| 5.3. Dados Laboratoriais | 26 |
| 5.4. Identificação de Variantes Virais | 33 |
| 6. DISCUSSÃO | 34 |
| 7. FINANCIAMENTO..... | 40 |
| 8. REFERÊNCIAS | 41 |
| 9. APÊNDICE | 48 |
| 9.1. Gráficos do Curso dos Dados Laboratoriais..... | 48 |
| 10. ANEXOS | 55 |
| 10.1. Parecer do CONEP..... | 55 |

1. INTRODUÇÃO

No final de 2019, surgiu na cidade de Wuhan, na China, uma epidemia de pneumonia causada por um coronavírus. A doença foi denominada COVID-19 e o vírus SARS-CoV-2 ¹. A partir de Wuhan, o SARS-CoV-2 disseminou-se ao redor do globo causando uma pandemia que até 06 de maio de 2022 já resultou na infecção de 516.512.677 pessoas e em 6.248.932 casos de morte, sendo 30.524.183 casos de infecção e 664.131 casos de morte no Brasil ². Na Bahia, já foram registrados cerca de 1.544.000 casos da doença e 29.863 mortes por COVID-19 ².

A infecção pode apresentar-se em um amplo espectro, desde ausência de manifestações clínicas até manifestações clínicas severas, incluindo uma insuficiência respiratória aguda grave devido a pneumonia intersticial viral. Os pacientes com as formas mais graves da doença requerem internamento hospitalar, ventilação mecânica e outros tratamentos. Esses pacientes, frequentemente, exibem lesões endoteliais que favorecem trombozes, podem desenvolver infecções secundárias, por bactérias e fungos, e são submetidos ao tratamento com várias drogas (antibióticos, vasopressores etc.), que podem levar o agravamento do quadro clínico ³.

Mais recentemente, com a evolução genética do SARS-CoV-2 surgiram algumas variantes virais de preocupação para a saúde pública, devido ao fato dessas cepas apresentarem maior transmissibilidade e/ou patogenicidade ³. Ainda existem limitações e lacunas no conhecimento sobre a natureza das lesões teciduais e os mecanismos de agravamento e morte na COVID-19, especialmente na perspectiva regional do estado da Bahia e da existência de variantes de preocupação para a saúde pública, com reflexo direto na eficácia da abordagem terapêutica dos pacientes. Ao longo da história, autópsia tem sido usada como uma ferramenta vantajosa para uso em várias finalidades, incluindo: a) o estabelecimento de correlações anatomoclínicas, e com isso desenvolvimento médico e científico, b) melhoria da qualidade do tratamento médico, c) o estudo de doenças novas, e d) o treinamento médico ^{4,5}. Há cerca de duas décadas, uma técnica denominada “autópsia minimamente invasiva guiada por ultrassom” vem sendo utilizada com sucesso para o estudo de várias doenças ⁶.

Em nosso laboratório, foi estabelecido um grupo técnico para a realização de autópsias minimamente invasivas guiadas por ultrassonografia em casos fatais de COVID-19. Nessas autópsias foram coletados fragmentos de pulmão, coração, fígado,

baço, rim, musculo esquelético e pele. Além disso, foram coletados também fragmentos do cérebro, linfonodo, glândulas salivares e intestino. As autópsias permitiram a identificação de alterações histológicas envolvidas nos casos mais graves da doença ou em consequência ao tratamento e deverão fornecer informações úteis para ajustes na terapêutica dos doentes. Em adição, outra equipe foi estabelecida para a coleta dos dados demográficos e clínicos dos casos de autópsia através de prontuário eletrônico do hospital de campanha.

A identificação do perfil demográfico e clínico do paciente grave de COVID-19 e a realização das autópsias minimamente invasivas, que permitiu também a caracterização da variante de SARS-CoV-2 do agente causal, podem favorecer a descoberta de mecanismos patogênicos e auxiliar na identificação da variante viral de preocupação em casos graves. A execução do trabalho poderá ter um impacto imediato no ajuste do tratamento de casos graves da COVID-19 no Estado da Bahia.

Palavras chaves: COVID-19, SARS-CoV-2, dados demográficos, dados clínicos, variante viral de preocupação.

2. OBJETIVOS

- a) **Geral:** Contribuir para o avanço do entendimento dos dados demográficos e clínicos e favorecer a identificação da variante viral de preocupação em casos graves de COVID-19 no estado da Bahia.
- b) **Específicos:** Descrever e analisar os dados demográficos, clínicos e laboratoriais de 14 casos fatais de COVID-19 submetidos à autopsia minimamente invasiva. Identificar as variantes virais de SARS-CoV-2 em 14 casos fatais de COVID-19 submetidos à autopsia minimamente invasiva e discutir sua importância epidemiológica.

3. REVISÃO DE LITERATURA

A *Coronavirus Disease* (COVID-19) é uma doença que surgiu no final de 2019, em Wuhan, na China ¹, e hoje é responsável por uma pandemia que, até 10/06/2021, já apresentou 174.243.152 casos e 3.754.037 mortes pelo mundo ². Mesmo com o início e avanço da vacinação, de forma que já foram administradas 2.208.407.256 doses de vacina no mundo ², o enfrentamento à pandemia, a partir da formação de quarentenas, proibição de viagens, medidas de distanciamento social e lockdown causou um grande impacto econômico global, resultando em atraso no desenvolvimento econômico, alterações tributárias e novas políticas monetárias de incentivo ao setor privado ⁷.

O agente etiológico responsável pela COVID-19 foi denominado de *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), embora previamente referido como 2019-nCoV, e se trata de um vírus da família *Coronaviridae*, com genoma de RNA de fita simples, com tamanho de 26 a 32 kilobases e envelope proteico ⁸. O vírus ainda foi classificado filogeneticamente como parte do gênero *Betacoronavirus* e do subgênero *Sarbecovirus*, sendo geneticamente semelhante ao bat-SL-CoVZC45 e bat-SL-CoVZXC21, dois coronavírus derivados de morcegos e geneticamente distinto ao previamente conhecido SARS-CoV, ainda que apresentem similaridades no domínio de ligação ao receptor ⁹.

Primariamente, se acreditava que os Coronavírus (CoVs) causavam infecções enzoóticas em pássaros e mamíferos, porém episódios recorrentes de síndromes respiratórias em humanos associadas aos Coronavírus como a SARS, MERS e, agora, COVID-19 demonstraram a grande capacidade dessa família de vírus de cruzar as barreiras de espécies ¹⁰. Em seu genoma, o SARS-CoV-2 contém informação para a síntese de proteínas estruturais importantes, como a proteína *spike* (S), proteína do envelope (E), proteína da membrana (M), proteína do nucleocapsídeo (N) e pelo menos 6 proteínas acessórias ¹¹.

Infecções assintomáticas são comuns e já estão bem documentadas, de forma que um estudo de revisão estimou que 33 por cento das pessoas infectadas pelo SARS-CoV-2 nunca desenvolvem sintomas ¹², tal revisão, por sua vez, se baseou em 4 estudos longitudinais com uma grande amostra que apresentaram uma mediana de 46% de indivíduos assintomáticos com diagnóstico laboratorial de COVID-19 e 14

estudos longitudinais, com uma mediana de 73 por cento de indivíduos assintomáticos¹².

Essa grande variação pode ser justificada por variações na própria definição de “assintomático” utilizada nos estudos. Quanto aos indivíduos sintomáticos, a apresentação e gravidade dos sintomas é classificada em um espectro que os classifica em COVID-19 moderada (sem ou com a apresentação de pneumonia moderada), descrita em cerca de 81 por cento dos pacientes, COVID-19 grave (com apresentação de dispneia, hipóxia ou >50 por cento de acometimento do pulmão), descrita em cerca de 14 por cento dos pacientes e COVID-19 crítica (com apresentação de falência respiratória, choque ou disfunção de múltiplos órgãos), descrita em cerca de 5 por cento dos pacientes e 2,3 por cento de letalidade, sendo que nenhuma morte foi referida em casos não críticos ¹³.

A evolução para o estágio grave da doença pode ocorrer em indivíduos saudáveis de qualquer idade, porém alguns fatores como idade, sexo e presença de comorbidades estão associadas com o avanço da doença ¹⁴. A idade avançada já é um fator de risco conhecido para o desfecho fatal da infecção por SARS-CoV-2, como reportado por Wu et al., em que a taxa de letalidade em pacientes de 70 a 79 anos foi de 8 por cento, enquanto em pacientes de 80 anos ou mais foi de 15 por cento, em comparação com os 2,3 por cento identificados na coorte já citada ¹³.

Algumas comorbidades também já estão amplamente associadas com desfechos desfavoráveis da doença, dentre elas pode-se citar doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, doença pulmonar obstrutiva crônica, câncer, doença renal crônica, pacientes transplantados^{13,15–20}, obesidade ^{21,22} e tabagismo ²³. Em adição, o sexo masculino apresentou um número relativamente alto, quando comparado com o sexo feminino, de mortes em diversas coortes ao redor do mundo^{15,24–28}.

Em relação à apresentação clínica, cerca de 50 por cento dos pacientes podem apresentar tosse, 43 por cento podem apresentar febre, 36 por cento podem apresentar mialgia, 34 por cento podem apresentar cefaleia, 29 por cento podem apresentar dispneia, 20 por cento podem apresentar faringite, 19 por cento podem apresentar diarreia, 12 por cento podem apresentar náuseas e vômitos e cerca de 10 por cento podem apresentar perda de olfato, paladar, dor abdominal e rinorreia, como descrito por Stokes et al. ²⁹. Além disso, com o avanço da doença, a COVID-19 pode apresentar uma série de complicações, como falência respiratória, complicações cardiovasculares, complicações tromboembólicas, complicações neurológicas,

complicações inflamatórias, infecções secundárias e ainda sequelas duradouras após a recuperação^{27,30-33}.

Dados sobre alterações patológicas e teciduais na COVID-19 ainda são escassos e ainda existem lacunas no conhecimento sobre a natureza das lesões teciduais e os mecanismos de agravamento e morte na COVID-19, especialmente na perspectiva regional do Brasil e estado da Bahia, portanto estudos de autópsias têm sido utilizados como uma ferramenta valiosa para estabelecer correlações anatomoclínicas, melhorar a qualidade do tratamento médico e estudar detalhadamente doenças novas (4, 5). Em um estudo com autópsia em 4 pacientes realizado na China, os autores relataram como principais achados histológicos no pulmão a injúria de células epiteliais, formação de membrana hialina e hiperplasia de pneumócitos do tipo II, o que caracteriza o dano alveolar difuso, além de consolidação por proliferação de fibroblastos e deposição de matriz extracelular e fibrina.³⁴

Em adição, Nienhold et al. descreveu dois padrões imunopatológicos diferentes em casos letais de COVID-19, diferidos de acordo com o nível de expressão de genes estimulados por interferon (ISGs) que sugerem estágios diferentes da doença, de forma que o estágio inicial está relacionado com desfechos letais precoces, enquanto o estágio tardio está mais associado com coagulopatias e desfechos letais tardios³⁵. Tais dados exemplificam a importância do melhor entendimento das alterações patológicas da COVID-19 nos pulmões para a adequação terapêutica dos pacientes.

A partir do estudo de 1809 sequências de diferentes cepas de SARS-CoV-2, não foram relatadas nenhuma mutação no domínio de ligação ao receptor (RBD) da proteína spike, porém estima-se que, em média, cada cepa possa desenvolver 1,75 mutações por mês. Algumas mutações observadas em determinadas variantes virais demonstraram uma menor estabilidade proteica, tal que pode levar a uma virulência reduzida, além de uma melhora na efetividade da ligação da proteína spike com a enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), o que sugere um caminho para a evolução das variantes virais³⁶. Em adição, cada vez mais aparecem estudos sobre alterações funcionais das variantes virais, respectivas mutações e o impacto na evolução do vírus, porém ainda existem lacunas sobre a possível relação entre variantes virais e diferentes padrões de lesões teciduais nos pulmões e/ou perfis patológicos diferentes.

4. METODOLOGIA

4.1. Desenho do estudo

Trata-se de um estudo original, exploratório, experimental de caráter retrospectivo e transversal.

4.2. Pacientes e Amostras

O estudo utilizou uma amostra de conveniência incluindo 14 pacientes falecidos com o diagnóstico clínico-laboratorial de COVID-19, do Instituto Couto Maia e Hospital Espanhol, ambos da rede pública do Estado da Bahia e designado como Centros de Referência para a situação específica da COVID-19, com ampla infraestrutura e corpo clínico preparados para a assistência aos pacientes com COVID-19, que familiares ou responsáveis legais tenham consentido com a participação no estudo para coleta de tecidos por agulha pós-morte, através da assinatura em um termo de consentimento livre e esclarecido. O Instituto Couto Maia conta com médicos e assistentes sociais habilitados para realizar o contato e acompanhamento dos familiares ou responsáveis legais que tenham consentido com a participação no estudo. O diagnóstico laboratorial foi confirmado através da técnica de RT-PCR a partir de amostras do swab nasofaríngeo dos pacientes. Em relação aos dados da distribuição geográfica dos pacientes, os mapas digitais foram obtidos a partir da base de dados cartográficos do IBGE (<https://portaldemapas.ibge.gov.br/>) e posteriormente reformatados no software QGIS Version 3.22.5 (<http://qgis.osgeo.org/>).

4.3. Coleta de Dados Demográficos, Clínicos e Laboratoriais

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos 14 pacientes falecidos submetidos à autópsia foram coletados a partir de prontuário eletrônico do Instituto Couto Maia, a partir dos dados alimentados pela equipe assistencialista. Foram coletados a idade, sexo, data de nascimento, data e hora do óbito, cor/etnia, escolaridade, profissão, naturalidade, estado civil, dia de início dos sintomas, dia do internamento, dia de entrada em UTI, tempo de doença, tempo de internamento hospitalar, tempo de internamento em UTI, local de residência, causa da morte, intervalo *post-mortem*, além de comorbidades e hábitos de vida, que incluem hipertensão arterial sistêmica, diabetes mellitus tipo 2, obesidade, tabagismo, etilismo,

vacinação contra SARS-CoV-2, câncer, doença renal crônica, insuficiência cardíaca e outras comorbidades. Além desses dados, foram coletados os sinais, sintomas e evolução dos pacientes de forma temporal, o que incluía a análise para a identificação de dispneia, tosse, expectoração, febre, cefaleia, inapetência, astenia, congestão nasal, anosmia, ageusia, mialgia, calafrios, rinorreia, dor pleurítica, êmese, náusea, hemoptise, primeira PCR positiva para SARS-CoV-2, internamento, ventilação mecânica não invasiva, ventilação mecânica invasiva, sepse, broncopneumonia, trombose e internamento em UTI. Em adição, foram coletados os medicamentos utilizados, incluindo doses e regime, exames laboratoriais, dispostos cronologicamente, tais que incluíam hematócrito (%), hemácias ($10^3/\text{mm}^3$), hemoglobina (g/dL), leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$), linfócitos ($10^3/\text{mm}^3$), neutrófilos segmentados ($10^3/\text{mm}^3$), neutrófilos bastonetes ($10^3/\text{mm}^3$), razão neutrófilo-linfócito (RNL), plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$), tempo de tromboplastina (segundos), atividade de protrombina (%), RNI, ureia (mg/dL), creatinina (mg/dL). Os pacientes foram identificados seguindo o código 2021ICOMA001 a 2021ICOMA014, de acordo com a ordem de realização das autópsias minimamente invasivas.

4.4. Análise Estatística

Os dados demográficos e clínicos dos casos foram coletados a partir do sistema de prontuários eletrônicos do Instituto Couto Maia (ICOM), Salvador, Bahia, 2021. Estatística descritiva foi utilizada para cálculo das medidas de tendência central e de dispersão das variáveis estudadas e foi feita através do software Statistical Package for the Social Sciences, versão 25.0 para Windows (SPSS inc, Chicago, IL) e no software GraphPad Prism versão 8.0.0 para Windows, GraphPad Software, San Diego, California USA, www.graphpad.com. O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para averiguar o pressuposto de normalidade das variáveis quantitativas contínuas. Foram utilizados média e desvio padrão (DP) para as variáveis de distribuição normal, e mediana e intervalo interquartil (IIQ) para as variáveis de distribuição não-normal.

4.5. Coleta de Amostras

Fragmentos de pulmão foram colhidos por biópsia transcutânea minimamente invasiva por agulha guia coaxial com calibre 13G e dispositivos Tru-Cut, os procedimentos foram guiados por ultrassom. As Necrópsias Minimamente Invasivas

Guiada Por Ultrassom (NMI-US) foram realizadas por radiologistas e patologistas com treinamento em radiologia intervencionista ou sob supervisão destes. Os fragmentos coletados em geral exibem uma forma cilíndrica medindo cerca de 20 x 1 x 1 mm. Cerca de 6 fragmentos de cada um dos pulmões foram coletados de cada quadrante (superior medial, superior lateral, inferior medial e inferior lateral). Em seguida, as amostras foram acondicionadas para a preservação dos tecidos para estudo histológico e por biologia molecular.

4.6. Caracterização das Variantes Virais

Fragmentos de tecido pulmonar com cerca de 20 x 1 x 1 mm foram coletados e mantidos em 1 mL de DNA/RNA Shield (Zymo Research, Irvine, EUA) por 48 horas. O excesso de DNA/RNA Shield foi removido e os fragmentos de tecido foram armazenados a -80°C . RNA total é extraído usando-se Trizol ThermoFisher Scientific, EUA, e reagentes e materiais do conjunto Rneasy, Qiagen, Hilden, Alemanha, seguindo-se as recomendações dos fabricantes. As amostras de RNA foram armazenadas a -80°C . Após a confirmação da detecção de RNA de SARS-CoV-2 por RT-PCR nas amostras do pulmão, o valor de Ct foi usado para determinação da ciclagem da RT-PCR para a amplificação do material genético do vírus com primers comerciais específicos (Ion AmpliSeq SARS-CoV-2 Research Panel, disponível em <https://ampliseq.com>). As bibliotecas de cDNA foram preparadas de acordo com a recomendação da empresa fabricante do conjunto Ion AmpliSeq Library Kit 2.0. Após a purificação de cDNA as bibliotecas foram quantificadas com o conjunto Ion Library TagMan Quantification Kit no ABI7500 Fast Real Time PCR. O sequenciamento do genoma de SARS-CoV-2 foi realizado em PGM Ion Torrent e as análises com auxílio de Torrent Suite v.5.12.1 (Thermo Fisher Scientific). A caracterização das cepas de SARS-CoV-2 foi realizada através de uma colaboração com o Dr. Bruno Solano, Fiocruz, Bahia e Hospital São Rafael, Salvador, Bahia, Dr. Thiago Graf, Fiocruz, Bahia e Dra. Milena Soares, Fiocruz, Bahia e SENAI CIMATEC, Salvador Bahia.

4.7. Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa “Aspectos Histológicos do Pulmão e Caracterização da Cepa de SARS-CoV-2 em Casos Fatais de COVID-19” foi aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) – Número do parecer: 4.526.485

5. RESULTADOS

O estudo foi realizado a partir de autópsias de 14 pacientes falecidos com diagnóstico clínico-laboratorial de infecção por SARS-CoV-2 do Instituto Couto Maia (ICOM), um centro de referência para enfrentamento da pandemia de COVID-19, em Salvador, Bahia, Brasil. Após o consentimento dos familiares e/ou responsável legal, verificado pela assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido, os pacientes foram submetidos à biópsia transcutânea minimamente invasiva por agulha para a coleta de fragmentos de pulmão para posterior análise histopatológica e caracterização das variantes virais de SARS-CoV-2. O tempo entre a morte e a realização das autópsias variou de 6 a 10 horas. A causa de morte foi verificada pelo atestado de óbito, encontrado no prontuário eletrônico do hospital, e foram variadas. A causa mais prevalente foi a insuficiência respiratória aguda (IRA) em 7 pacientes (50%); choque séptico em 3 pacientes (21.4%); choque obstrutivo secundário a um tromboembolismo pulmonar em 1 paciente (7.1%); hipopotassemia secundária a insuficiência renal aguda em 1 paciente (7.1%); choque hipovolêmico em 1 paciente (7.1%) e choque cardiogênico secundário a uma insuficiência cardíaca congestiva prévia em 1 paciente (7.1%).

Os dados demográficos, clínicos e laboratoriais dos pacientes foram coletados através de prontuário eletrônico do hospital, submetidos à análise estatística descritiva e serão explorados no decorrer do estudo.

5.1. Dados Demográficos

A mediana das idades dos 14 pacientes falecidos com COVID-19 foi de 60.5 anos (IIQ 15); 71.4% foram homens (n=10). 100% (n=14) dos pacientes se autodeclaravam como pardos. Em relação ao estado civil, 50% (n=7) dos pacientes eram casados, enquanto 35,7% (n=5) eram solteiros; somente 1 paciente era viúvo e 1 paciente era divorciado. Quanto a escolaridade, 28,5% (n=4) possuíam ensino superior completo, 28,5% (n=4) possuíam ensino médio completo, 7% (n=1) possuía ensino médio incompleto, 7% (n=1) possuía ensino fundamental completo e 28,5% (n=4), possuíam ensino fundamental incompleto (Tabela 1).

Tabela 1 - Dados demográficos de casos fatais de COVID-19 (**N=14**) provenientes de um centro de referência, Salvador, Bahia (2021).

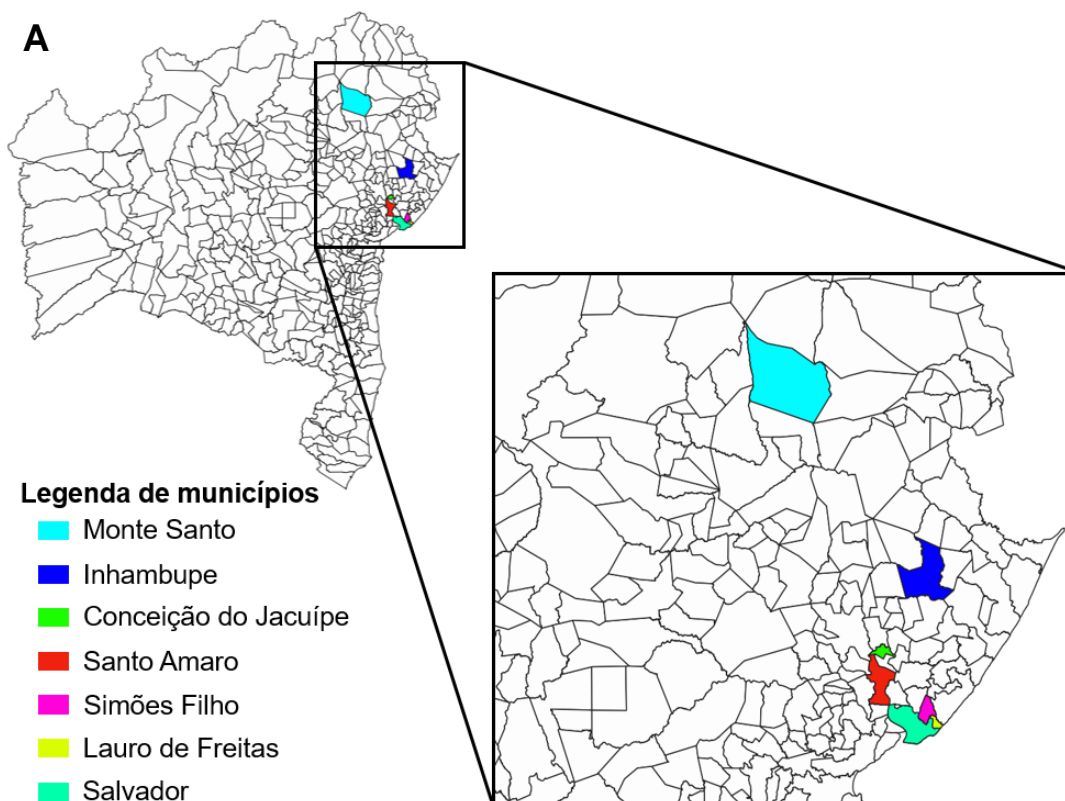
| Dados demográficos | |
|--------------------------------------|------------------|
| Idade (anos) - mediana (IIQ) | 60.5 (15) |
| Sexo masculino - n. (%) | 10 (71,4) |
| Raça - n. (%) | |
| <i>Parda</i> | 14 (100) |
| Estado civil - n. (%) | |
| <i>Casado</i> | 7 (50) |
| <i>Solteiro</i> | 5 (35,7) |
| <i>Viúvo</i> | 1 (7) |
| <i>Divorciado</i> | 1 (7) |
| Procedência - n. (%) | |
| <i>Salvador</i> | 8 (57,1) |
| <i>Monte Santo</i> | 1 (7) |
| <i>Inhambupe</i> | 1 (7) |
| <i>Conceição do Jacuípe</i> | 1 (7) |
| <i>Santo Amaro</i> | 1 (7) |
| <i>Simões Filho</i> | 1 (7) |
| <i>Lauro de Freitas</i> | 1 (7) |
| Escolaridade - n. (%) | |
| <i>Ensino superior completo</i> | 4 (28,5) |
| <i>Ensino médio completo</i> | 4 (28,5) |
| <i>Ensino fundamental incompleto</i> | 4 (28,5) |
| <i>Ensino fundamental completo</i> | 1 (7) |
| <i>Ensino médio incompleto</i> | 1 (7) |

Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). As variáveis de distribuição normal foram expressas em médias \pm desvio padrão e as de distribuição não-normal em mediana (intervalo interquartil). DP = Desvio padrão; IIQ = Intervalo interquartil. n. = Número absoluto.

Os pacientes eram procedentes de diversas regiões do estado da Bahia, no Brasil. Em sua maioria os pacientes eram procedentes de Salvador (n=8), e 2 deles residiam nos bairros de Cajazeiras (n=2), Pituaçu (n=1), Dois de Julho (n=1), Periperi (n=1), Mussurunga (n=1), Pituba (n=1) e Mata Escura (n=1). Os demais pacientes

eram procedentes do interior do estado e da região metropolitana de Salvador, sendo 1 paciente procedente de Inhambupe, 1 paciente procedente de Conceição do Jacuípe, 1 paciente procedente de Santo Amaro da Purificação, 1 paciente procedente de Lauro de Freitas, 1 paciente procedente de Simões Filho e 1 paciente procedente de Monte Santo. A distribuição geográfica da procedência dos pacientes em todo o estado da Bahia e a distribuição geográfica da procedência dos pacientes em diferentes bairros da cidade de Salvador foi ilustrada através da figura 1.

Figura 1 – Distribuição geográfica da procedência de casos fatais de COVID-19 (N=14) provenientes de um centro de referência, Salvador, Bahia (2021).



B

Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Distribuição dos casos nos municípios do Estado da Bahia. B) Distribuição dos casos nos bairros dos municípios de Salvador, 1 = Periperi; 2 = Cajazeiras; 3 = Mussurunga; 4 = Mata Escura; 5 = Pituáçu; 6 = Pituba; 7 = Dois de Julho. Os mapas digitais foram obtidos a partir da base de dados cartográfica do IBGE (<https://portaldemapas.ibge.gov.br/>) e posteriormente reformatados no software QGIS Version 3.22.5 (<http://qgis.osgeo.org/>).

5.2 Dados Clínicos

O intervalo entre o início dos sintomas e internamento hospitalar dos pacientes foi, em média, 7.0 dias (desvio padrão de ± 1.6 dias). O tempo de doença médio foi de 21.4 dias (desvio padrão de ± 9.5 dias). Todos os pacientes avaliados no estudo foram internados e, posteriormente, admitidos em leitos da Unidade de Terapia Intensiva (UTI) do Instituto Couto Maia (ICOM), o tempo em que os pacientes permaneceram internados, em dias, teve como mediana 11 (intervalo interquartil de 9.5 dias) e o tempo em que os pacientes permaneceram na UTI teve uma mediana de 10.5 dias (intervalo interquartil de 8.75 dias).

Em relação aos hábitos de vida dos pacientes estudados, pode-se destacar que foram identificados apenas 2 pacientes com histórico de tabagismo (14.2%) e 1 paciente com histórico de etilismo (7.1%). Quanto às comorbidades avaliadas, a mais prevalente na amostra foi hipertensão arterial sistêmica (HAS), existente em 7 pacientes (50%); seguida por obesidade, identificada em 6 pacientes (42.8%);

diabetes mellitus tipo 2 (DM 2), presente em 5 pacientes (35.7%) e doença renal crônica (DRC), em 1 paciente (7.1%). A tabela 2 consolida os principais dados clínicos dos casos autopsiados, para uma visão individualizada das principais características dos casos de autópsia, deve-se consultar a tabela 3.

Tabela 2 - Dados clínicos de casos fatais de COVID-19 (N=14) provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).

| Dados Clínicos | |
|---|--------------------|
| Tempo de doença (dias) - mediana (IIQ) | 20 (11,5) |
| Intervalo entre início de sintomas e internamento (dias) - mediana (IIQ) | 7.5 (2) |
| Tempo de internamento (dias) - mediana (IIQ) | 11 (9.5) |
| Tempo de enfermaria (dias) - mediana (IIQ) | 1,5 (1,75)* |
| Tempo de UTI (dias) - mediana (IIQ) | 10.5 (8.75) |
| Tabagismo - n. (%) | 2 (14.2) |
| Etilismo - n. (%) | 1 (7.1) |
| Comorbidades - n. (%) | |
| <i>Hipertensão arterial sistêmica</i> | 7 (50) |
| <i>Diabetes mellitus tipo 2</i> | 5 (35.7) |
| <i>Obesidade</i> | 6 (42.8) |
| <i>Doença renal crônica</i> | 1 (7.1) |
| Uso de medicamentos - n. (%) | |
| <i>Antibióticos</i> | 12 (85,7) |
| <i>Corticosteroides</i> | 13 (92,8) |
| <i>Anticoagulantes</i> | 10 (71,4) |
| Causas do óbito - n. (%) | |
| <i>Insuficiência respiratória aguda</i> | 7 (50) |
| <i>Choque séptico</i> | 3 (21,4) |
| <i>Tromboembolismo pulmonar</i> | 1 (7,1) |
| <i>Insuficiência renal aguda</i> | 1 (7,1) |
| <i>Choque hipovolêmico</i> | 1 (7,1) |
| <i>Choque cardiogênico</i> | 1 (7,1) |

Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). As variáveis de distribuição normal foram expressas em médias \pm desvio padrão e as de distribuição não-normal em mediana (intervalo interquartil). DP = Desvio padrão; IIQ = Intervalo interquartil. n. = Número absoluto. * Correspondente a uma amostra de 5 casos.

Tabela 3 – Características individuais de casos fatais de COVID-19 (**N=14**) provenientes de um centro de referência, Salvador, Bahia (2021).

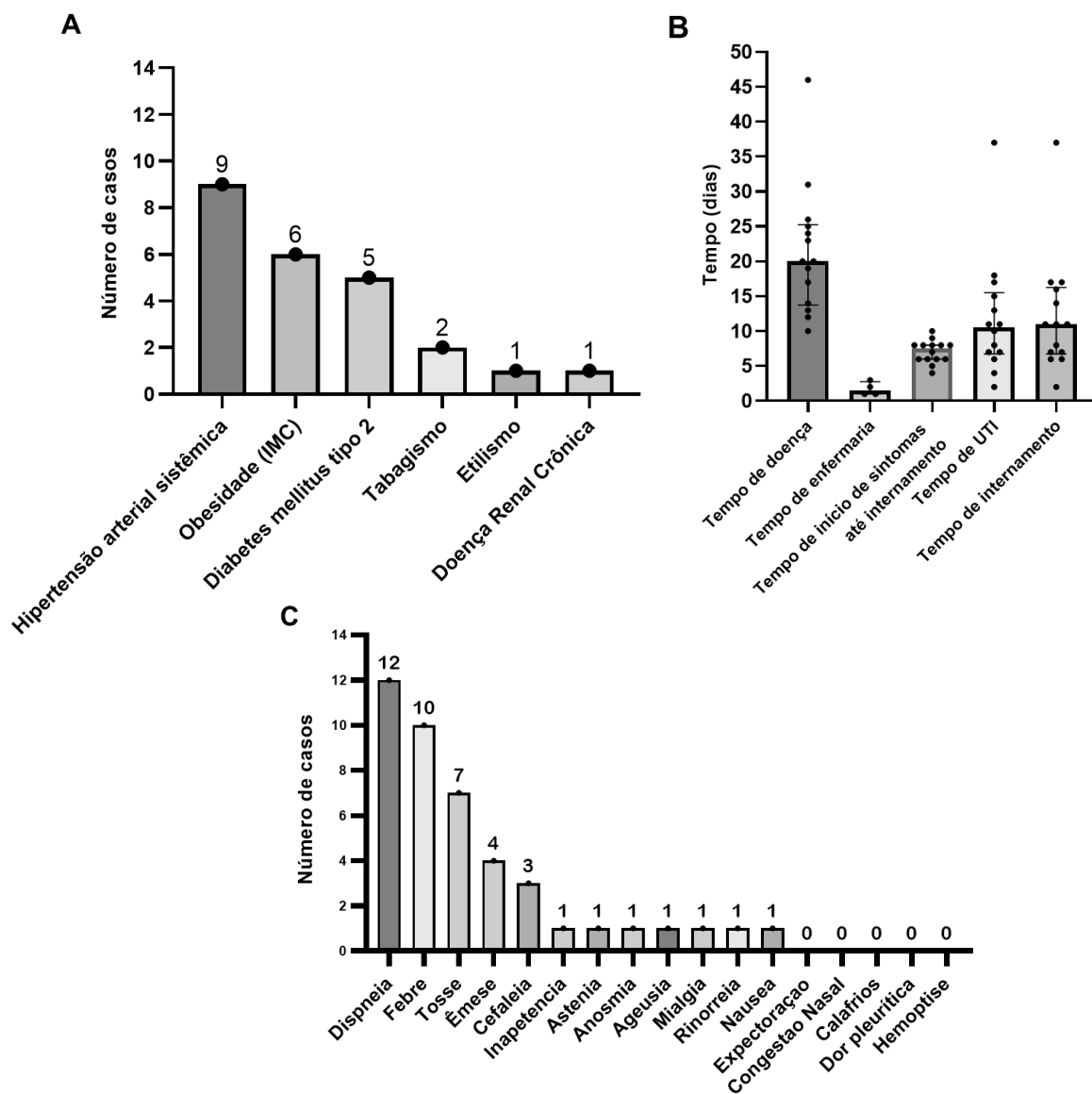
| Caso | Sexo | Idade (anos) | Procedência (município)* | Tempo de Doença (dias) | Tempo de Internação (dias) | Comorbidades |
|--------------|------|-----------------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------------|---|
| 2021ICOMA001 | F | 45 | Inhambupe | 14 | 7 | Não referido |
| 2021ICOMA002 | M | 63 | Salvador | 13 | 6 | Não referido |
| 2021ICOMA003 | M | 51 | Salvador | 19 | 8 | Não referido |
| 2021ICOMA004 | M | 59 | Salvador | 20 | 14 | HAS |
| 2021ICOMA005 | M | 66 | Salvador | 23 | 11 | Não referido |
| 2021ICOMA006 | M | 82 | Salvador | 17 | 7 | CA de Pele, Cardiopatia |
| 2021ICOMA007 | F | 66 | Salvador | 10 | 2 | HAS, DM |
| 2021ICOMA008 | M | 37 | Salvador | 31 | 11 | Não referido |
| 2021ICOMA009 | F | 54 | Salvador | 20 | 11 | Não referido |
| 2021ICOMA010 | M | 65 | Conceição do Jacuípe | 25 | 16 | HAS, DM |
| 2021ICOMA011 | F | 62 | Santo Amaro da Purificação | 26 | 17 | HAS, DM |
| 2021ICOMA012 | M | 51 | Lauro de Freitas | 24 | 17 | HAS, DPOC |
| 2021ICOMA013 | M | 76 | Simões Filho | 46 | 37 | HAS, DM, ICC, AVE, Epilepsia, IAM |
| 2021ICOMA014 | M | 56 | Monte Santo | 12 | 6 | HAS, DM |

Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). * Todos os municípios elencados pertencem ao estado da Bahia, Brasil. M = masculino; F = feminino; HAS = hipertensão arterial sistêmica; DM = diabetes mellitus; CA = câncer; DPOC = doença pulmonar obstrutiva crônica; ICC = insuficiência cardíaca congestiva; AVE = acidente vascular encefálico; IAM = infarto agudo do miocárdio.

Em relação aos sinais e sintomas apresentados pelos pacientes ao longo do curso da doença, o sintoma respiratório mais frequentemente observado foi a dispneia, presente em 85,7% (n=12) dos casos, seguida pela tosse, observada em 50% (n=7) dos casos, e, finalmente, a rinorreia, citada por somente 7% (n=1). Outros sintomas investigados, como expectoração, congestão nasal, dor pleurítica e hemoptise, não foram referidos nos prontuários investigados. Quanto aos sintomas sistêmicos, 71,4% (n=10) dos casos apresentaram febre, 7% (n=1) apresentou inapetência, 7% (n=1) apresentou mialgia e nenhum caso apresentou calafrios. Episódios vômitos foram referidos em 28,5% (n=4) dos casos e náusea em 7% (n=1). Quanto aos sintomas neurológicos, a cefaleia estava presente em 21,4% (n=3) dos

casos, enquanto ageusia e anosmia foram referidas somente em 1 caso cada (Figura 2).

Figura 2 - Dados clínicos e cronológicos de casos fatais de COVID-19 (N=14) provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).

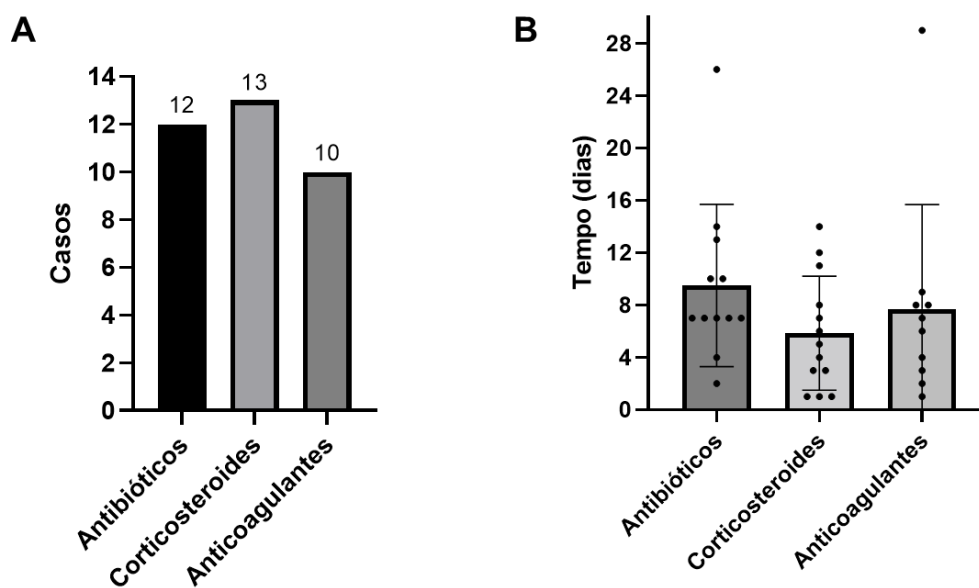


Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Histórico médico prévio. B) Variáveis cronológicas. C) Sintomas apresentados em qualquer ponto da doença. Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão.

Ao longo da internação hospitalar, uma quantidade expressiva de pacientes recebeu alguma intervenção terapêutica com antibióticos, corticosteroides e/ou anticoagulantes. 71,4% (n=10) dos pacientes receberam, em algum momento do curso da doença, antibioticoterapia de forma empírica ou para tratar infecção já confirmada, por uma média de 9,5 dias. 92,8% (n=13) dos pacientes foram tratados

com corticosteroides por uma média de 5,8 dias. Além disso, 71,4% (n=10) dos pacientes foram submetidos à terapia com anticoagulantes, por uma média de 7,7 dias (Tabela 2) (Figura 3).

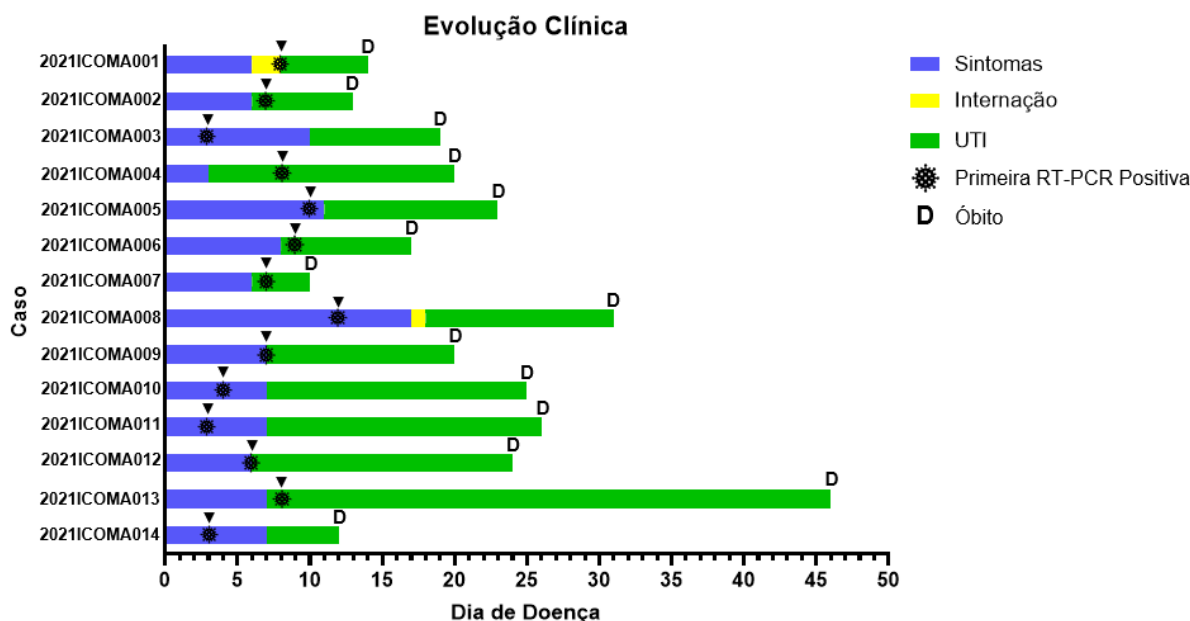
Figura 3 – Dados sobre o uso de medicamentos durante o internamento em casos fatais de COVID-19 (N=14) provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Número de casos que fizeram uso de antibióticos, corticosteroides ou anticoagulantes em algum momento da internação. B) Tempo de uso de antibióticos, corticosteroides ou anticoagulantes durante a internação. Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão.

Para mais detalhes acerca da evolução clínica individual dos pacientes submetidos à autópsia minimamente invasiva e identificação da primeira RT-PCR positiva de cada um dos casos, deve-se observar a figura 4.

Figura 4 – Evolução clínica individual de casos fatais de COVID-19 (**N=14**) provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM).

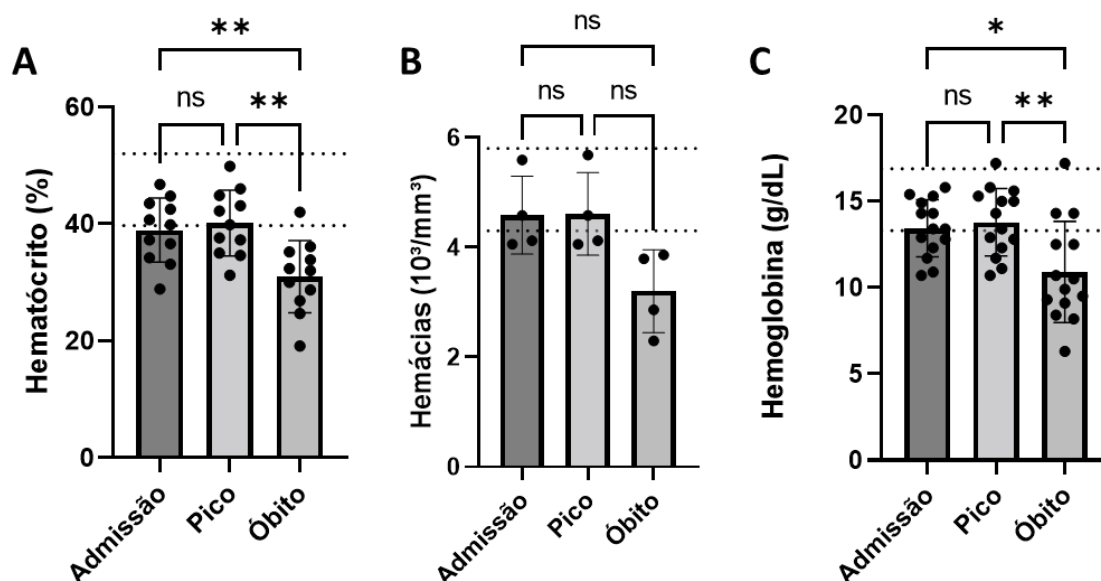
5.3 Dados Laboratoriais

Os resultados envolvendo os exames laboratoriais presentes nesse estudo foram elaborados considerando 3 grupos de valores do parâmetro laboratorial de interesse, o valor no momento da admissão, o valor mais alto (pico) e o valor do último exame coletado anteriormente ao óbito do paciente. Não foi possível encontrar o valor ou determinado exame não foi solicitado em alguns casos. Caso haja interesse no curso dos dados laboratoriais de cada paciente ao longo da internação, deve-se checar o apêndice.

Em relação aos dados laboratoriais da série vermelha do hemograma dos casos estudados, a média de hematócrito se manteve abaixo dos valores de referência tanto na admissão, quanto no óbito, de forma que a média na admissão foi de 38,93 ($\pm 5,46$) %, do pico foi de 40,15 ($\pm 5,62$)% e no óbito foi de 31 ($\pm 6,16$)%, a diferença entre os valores da admissão e o pico não foi estatisticamente significativa. Quanto ao valor de hemácias, a média na admissão foi de 4,58 ($\pm 0,7$) $10^3/\text{mm}^3$, do pico foi de 4,61 ($\pm 0,75$) $10^3/\text{mm}^3$ e no óbito foi de 3,2 ($\pm 0,75$), entretanto a diferença entre os 3 grupos de valores analisados não foi estatisticamente significativa. No que tange a hemoglobina, na admissão a média foi de 13,44 ($\pm 1,65$) g/dL, do pico foi de 13,79 ($\pm 1,95$) g/dL e no óbito foi de 10,91

($\pm 2,93$) g/dL, a diferença entre os valores na admissão e pico não foi estatisticamente significativa (Figura 5).

Figura 5 – Dados laboratoriais da série vermelha do hemograma de casos fatais de COVID-19, divididos nos momentos de admissão, pico e óbito, provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



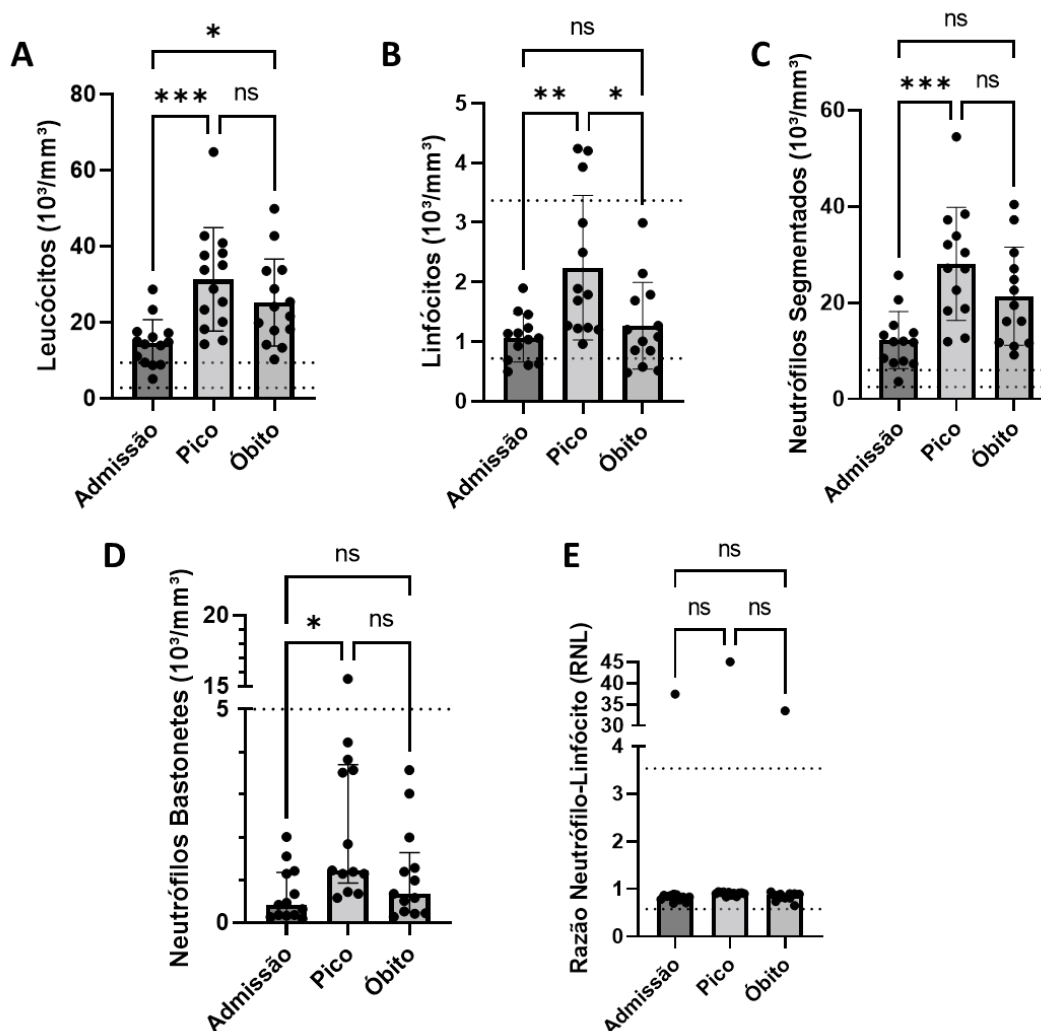
Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Porcentagem de hematócrito (N=11). B) Concentração de hemácias (N=4). C) Concentração de hemoglobina (N=14). Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão. Foi feito o teste estatístico one-way ANOVA seguido do teste de Tukey para múltiplas comparações. ns $p > 0,05$, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,0001$. As linhas pontilhadas correspondem aos limites inferior e superior de normalidade.

No que diz respeito aos dados laboratoriais da série branca do hemograma dos casos estudados, a média dos leucócitos se manteve acima dos valores de referência nos 3 valores analisados, principalmente às custas de uma neutrofilia, visto que a média dos neutrófilos segmentados nos 3 valores analisados foi consideravelmente superior aos valores de referência, sem demais alterações significativas para as demais células em evidência.

A média dos leucócitos na admissão foi de $14,62 (\pm 6,12) 10^3/\text{mm}^3$, do pico foi de $31,34 (\pm 13,6) 10^3/\text{mm}^3$ e do óbito foi de $25,28 (\pm 11,45) 10^3/\text{mm}^3$, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de pico e óbito. A média dos linfócitos foi de $1,06 (\pm 0,4) 10^3/\text{mm}^3$ na admissão, do pico foi de $2,24 (\pm 1,21)$

$10^3/\text{mm}^3$ e do óbito foi de $1,26 (\pm 0,72) 10^3/\text{mm}^3$, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores da admissão e óbito. A média dos neutrófilos segmentados na admissão foi de $12,24 (\pm 5,91) 10^3/\text{mm}^3$, do pico foi de $28,08 (\pm 11,74) 10^3/\text{mm}^3$ e do óbito foi de $21,38 (\pm 10,19) 10^3/\text{mm}^3$, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores da admissão e óbito e entre os valores do pico e óbito. A mediana dos neutrófilos bastonetes foi de $0,41$ (IIQ 1) $10^3/\text{mm}^3$ na admissão, do pico de $1,22$ (IIQ 2,77) $10^3/\text{mm}^3$ e de $0,67$ (IIQ 1,41) $10^3/\text{mm}^3$, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores da admissão e óbito e entre os valores do pico e óbito. A mediana da razão neutrófilo-linfócito (RNL) foi de $0,84$ (IIQ 0,1) na admissão, de $0,91$ (IIQ 0,05) do pico e foi de $0,87$ (IIQ 0,09) no óbito, porém não houve diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos de valores analisados (Figura 6).

Figura 6 – Dados laboratoriais da série branca do hemograma de casos fatais de COVID-19, divididos nos momentos de admissão, pico e óbito, provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



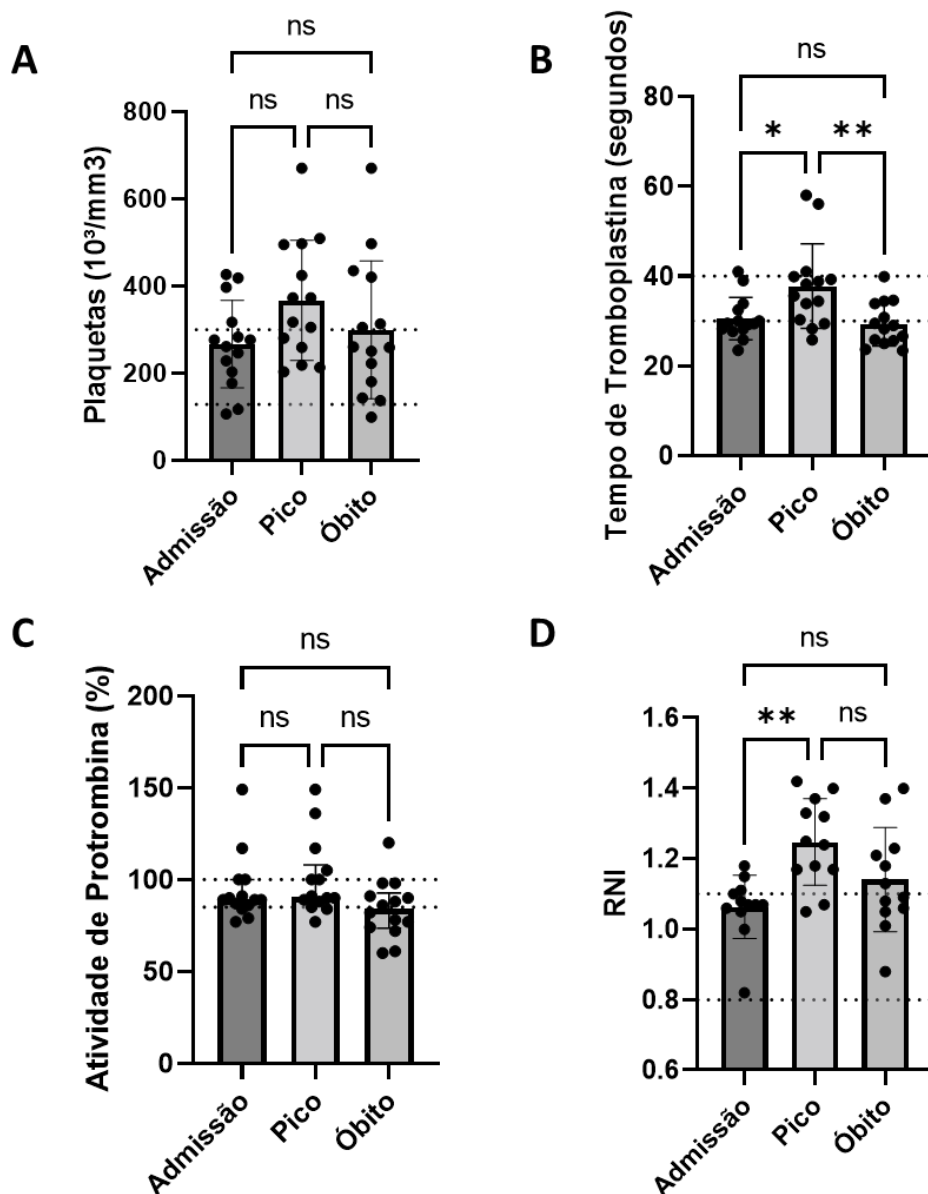
Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Concentração de leucócitos (N=14). B) Concentração de linfócitos (N=13). C) Concentração de neutrófilos segmentados (N=13). D) Concentração de neutrófilos bastonetes (N=13). E) Valor da razão neutrófilos-lymfócito (N=13) Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão para as variáveis de distribuição normal e mediana e intervalo interquartil (IIQ) para variáveis de distribuição não-normal. Foi feito o teste estatístico one-way ANOVA seguido do teste de Tukey para múltiplas comparações. ns $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0,0001$. As linhas pontilhadas correspondem aos limites inferior e superior de normalidade.

No que diz respeito aos dados laboratoriais dos exames do coagulograma dos casos estudados, em geral, os valores se mantiveram dentro do padrão de referência, porém a média de plaquetas se mostrou acima dos valores de referência no pico, embora a diferença entre os 3 momentos não foi

estatisticamente significativa. Além disso, a média dos valores de RNI do pico também se mostrou acima dos valores de referência.

A média dos valores de plaquetas na admissão foi de $266,5 (\pm 100,2) 10^3/\text{mm}^3$, do pico foi de $366,9 (\pm 137,8) 10^3/\text{mm}^3$ e no óbito foi de $299,3 (\pm 158,5) 10^3/\text{mm}^3$, a diferença entre os 3 grupos de valores analisados não foi estatisticamente significativa. A média dos valores de tempo de tromboplastina na admissão foi de $30,58 (\pm 4,73)$ segundos, do pico foi de $37,79 (\pm 9,42)$ segundos e no óbito de $29,32 (\pm 4,87)$ segundos, não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores da admissão e óbito. A mediana dos valores de atividade de protrombina na admissão foi de 89 (IIQ 14,5)%, do pico foi de 90,5 (IIQ 20,75)% e no óbito foi de 84 (IIQ 19,25), entretanto não houve diferença estatisticamente significativa entre os 3 grupos de valores analisados. A média dos valores de RNI na admissão foi de $1,06 (\pm 0,08)$, do pico foi de $1,24 (\pm 0,12)$ e no óbito foi de $1,14 (\pm 0,14)$, a diferença entre a média dos valores de admissão e óbito e entre os valores de pico e óbito não foi estatisticamente significativa (Figura 7).

Figura 7 – Dados laboratoriais do coagulograma de casos fatais de COVID-19, divididos nos momentos de admissão, pico e óbito, provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



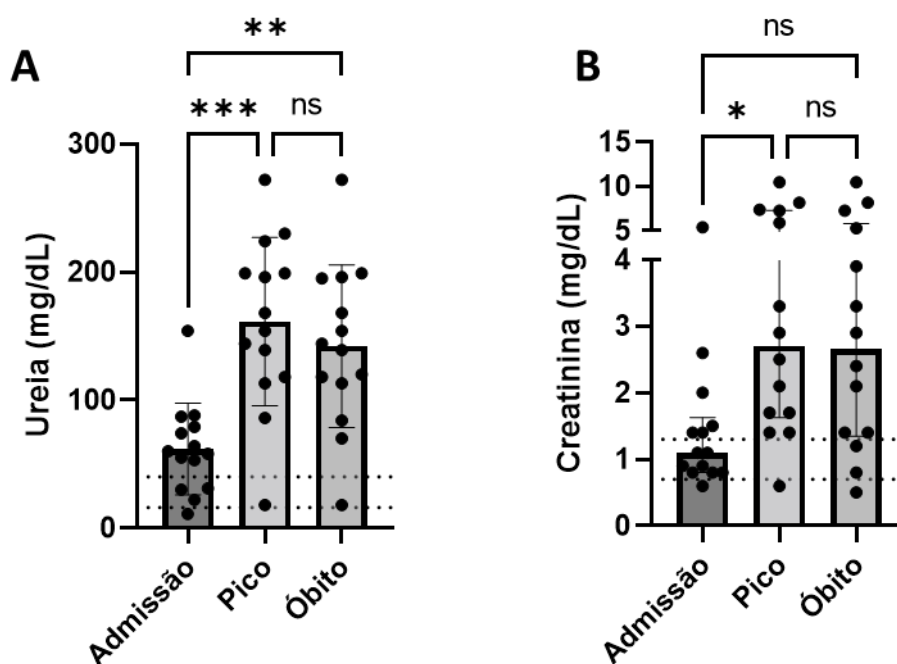
Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Concentração de plaquetas (N=14). B) Tempo de tromboplastina (N=14). C) Atividade de protrombina (N=14). D) RNI (N=12). Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão para as variáveis de distribuição normal e mediana e intervalo interquartil (IIQ) para variáveis de distribuição não-normal. Foi feito o teste estatístico one-way ANOVA seguido do teste de Tukey para múltiplas comparações. ns $p > 0.05$, * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0,0001$. As linhas pontilhadas correspondem aos limites inferior e superior de normalidade.

Quanto aos dados laboratoriais dos exames de função renal dos casos estudados, nos 3 grupos de valores analisados a média ureia se manteve

expressivamente acima dos valores de referência. Em adição, a mediana de creatinina se comportou de forma semelhante, se apresentando consideravelmente aumentada no pico e óbito.

A média dos valores de ureia na admissão foi de 61,86 ($\pm 35,67$) mg/dL, do pico foi de 161,4 ($\pm 65,7$) mg/dL e no óbito foi de 142,1 ($\pm 63,57$) mg/dL, a diferença entre a média dos valores no pico e óbito não é estatisticamente significativa. A mediana dos valores de creatinina na admissão foi de 1,1 (IIQ 0,82) mg/dL, do pico foi de 2,7 (IIQ 5,7) mg/dL e no óbito foi de 2,65 (IIQ 4,45), as diferenças entre a mediana dos valores de admissão e óbito e dos valores no pico e óbito não são estatisticamente significantes.

Figura 8 – Dados laboratoriais da função renal de casos fatais de COVID-19, divididos nos momentos de admissão, pico e óbito, provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).



Fonte: Instituto Couto Maia (ICOM). A) Concentração de ureia (N=14). B) Concentração de creatinina (N=14). Os valores foram expressos em médias \pm desvio padrão para as variáveis de distribuição normal e mediana e intervalo interquartil (IIQ) para variáveis de distribuição não-normal. Foi feito o teste estatístico one-way ANOVA seguido do teste de Tukey para múltiplas comparações. ns $p > 0,05$, * $p \leq 0,05$, ** $p \leq 0,01$, *** $p \leq 0,0001$. As linhas pontilhadas correspondem aos limites inferior e superior de normalidade.

5.4 Identificação de Variantes Virais

Nosso grupo coletou amostras de tecido pulmonar por autópsia minimamente invasiva nos 14 casos e os fragmentos foram condicionados, armazenados e posteriormente processados para a análise do RNA viral e identificação das variantes virais de SARS-CoV-2 em cada um dos casos. Nos casos 2021ICOMA001 e 2021ICOMA002 não houve coleta de tecido pulmonar o suficiente para o processamento da amostra e identificação da variante. Em adição os casos 2021ICOMA013 e 2021ICOMA014 ainda estão sendo processados para a realização do sequenciamento e o caso 2021ICOMA005 não passou no controle de qualidade da amostra, portanto não será possível relatar a variante viral desses casos.

Quanto aos demais casos, houve maior prevalência da variante Gamma (P.1 e linhagens descendentes), presente em 78% (n=7) dos casos, enquanto as demais variantes foram menos expressivas e em 11,5% (n=1) foi identificada a variante Zeta (P.2) e em 11,5% (n=1) foi identificada a variante Delta (B.1.617.2 e linhagens AY). A identificação das variantes virais em cada caso pode ser verificada na tabela 4.

Tabela 4 – Identificação da variante viral de SARS-CoV-2 em casos fatais de COVID-19 (N=14) provenientes de um centro de referência de COVID-19, Salvador, Bahia (2021).

| Caso | Variante Viral Identificada |
|--------------|--------------------------------------|
| 2021ICOMA001 | Sem amostra suficiente. |
| 2021ICOMA002 | Sem amostra suficiente. |
| 2021ICOMA003 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA004 | Zeta (P.2) |
| 2021ICOMA005 | Não passou no controle de qualidade. |
| 2021ICOMA006 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA007 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA008 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA009 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA010 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA011 | Gamma (P.1 e linhagens descendentes) |
| 2021ICOMA012 | Delta (B.1.617.2 e linhagens AY) |
| 2021ICOMA013 | Ainda não identificada. |
| 2021ICOMA014 | Ainda não identificada. |

Fonte: Instituto Gonçalo Moniz (IGM) – Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Hospital São Rafael (HSR) e SENAI CIMATEC, Salvador, Bahia.

6. DISCUSSÃO

O presente estudo fornece uma visão geral acerca dos dados demográficos, clínicos e laboratoriais de casos graves de COVID-19, que posteriormente evoluíram para o óbito e foram submetidos a autópsias minimamente invasivas, o que permitiu a identificação da principal variante viral causadora da infecção que levou ao estágio severo da doença. Os resultados encontrados fornecem informações interessantes para auxiliar no enfrentamento da pandemia, principalmente no contexto do estado da Bahia, e merece ser discutido. Os casos estudados se tratava de uma amostra de conveniência, proveniente de um centro especializado em infectologia, tal que foi um importante hospital de campanha contra a COVID-19 no estado da Bahia, e, portanto, representam adequadamente o perfil regional de pacientes.

Mostramos, através da caracterização dos dados demográficos, que a maior parte dos pacientes que atingiram o estágio severo da doença, seguido de óbito, era composta por homens, acima dos 50 anos, com a mediana das idades de 60,5 anos, o que condiz com a amostra de outros estudos epidemiológicos ao longo dos anos de pandemia e em outras regiões do mundo, como o de Huang *et al.*¹⁴ na China e o de Scott *et al.*³⁷ nos Estados Unidos. Entretanto, se tratando de casos letais de COVID-19, a baixa mediana das idades dos pacientes nos surpreendeu, visto que a idade avançada é considerada um fator de risco para desfechos graves e, normalmente, estudos de autópsia em pacientes de COVID-19 possuem uma amostra mais velha, como demonstrado em Edler *et al.*³⁸.

Como lidamos com pacientes que atingiram o estágio severo da doença e evoluíram ao óbito, esperávamos uma amostra com diversos pacientes com comorbidades como obesidade, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus, doença renal crônica, imunossupressão e câncer^{13, 15-20}, o que se confirmou após a coleta de dados, visto que somente 2 pacientes não apresentavam algum fator de risco. Entretanto, nos chamou atenção a baixa quantidade de pacientes com histórico de tabagismo, visto que é um importante fator de risco para a evolução para o quadro severo da COVID-19, porém é relativamente adequada à proporção de tabagistas no estado da Bahia³⁹. A causa de morte mais prevalente foi insuficiência respiratória aguda, seguida de choque séptico e eventos tromboembólicos, o que condiz com outros dados disponíveis na literatura, como demonstrado por Contou *et al.*⁴⁰.

O sintoma mais prevalente na amostra estudada foi a dispneia, seguido por febre, tosse, êmese e cefaleia, o que condiz com os relatos de outros estudos de

autópsia em pacientes críticos, como o de Elsoukkary *et al.*⁴¹, embora os sintomas como êmese e cefaleia não tenham sido tão frequentes no estudo citado. Com isso, podemos ressaltar como sintomas mais prevalentes da COVID-19 a dispneia e febre.

Quanto ao tempo de doença, de internação e de UTI, percebemos que eles foram significativamente mais baixos do que o reportado em uma coorte realizada por Yao *et al.*⁴², isso pode ser explicado pela forma em que os pacientes foram incluídos no estudo, visto que a maior parte dos casos foram provenientes de unidades de pronto atendimento e, posteriormente, pela gravidade do quadro clínico, foram referenciados para o Instituto Couto Maia, que foi um grande centro para o enfrentamento da pandemia de COVID-19 em Salvador, Bahia, porém não foi uma unidade de porta aberta e isso pode ter enviesado nossos dados para casos inicialmente já mais graves do que os usualmente relatados em estudos de autópsia, o que possivelmente levou ao óbito mais precocemente. Quando comparamos com outro estudo que utilizou uma amostra com a maior parte dos pacientes em estado severo/crítico da doença, percebemos uma semelhança no tempo de duração da doença e entre o tempo de internação ao óbito⁴³, o que corrobora com nossa hipótese.

Como relatado anteriormente, a maior parte dos pacientes envolvidos em nosso estudo foram submetidos a algum regime terapêutico com antibióticos, corticosteroides e/ou anticoagulantes, o que condiz com o que foi demonstrado por outros estudos de autópsia em pacientes de COVID-19^{43,44} em outras regiões do mundo, sendo essas as principais classes de medicamentos utilizadas no tratamento profilático e sintomático de possíveis complicações existentes no curso da doença, como coinfeções bacterianas e fúngicas, fenômenos tromboembólicos, sepse e todo o quadro inflamatório⁴⁵.

A alteração laboratorial nos pacientes em nosso estudo que merece destaque é a leucocitose com neutrofilia, visto que a média dos valores de leucócitos e neutrófilos estava maior do que o limite superior tanto na admissão, quanto no pico e óbito dos pacientes, o que foi reportado principalmente em casos de COVID-19 moderada, tal que não condiz com o perfil de pacientes em nosso estudo⁴⁶. A alteração laboratorial da série branca do hemograma mais descrita em pacientes moderados e severos é a linfopenia^{46, 47}, o que não foi reproduzido em nosso estudo, visto que, embora a média dos valores de linfócitos dos pacientes analisados estava próxima do valor de referência inferior, principalmente na admissão e óbito, a linfopenia franca não foi observada em nenhum dos 3 momentos analisados. Talvez

isso possa ter relação com o tratamento adequado dos pacientes em nosso estudo, porém esse dado carece de mais investigação.

Quanto à série vermelha do hemograma, a alteração mais frequentemente observada por Araya *et al.* foi a anemia, o que foi parcialmente reproduzível em nosso estudo, visto que na admissão e pico nos casos analisados, a média dos valores de hemoglobina estava limítrofe para o valor de referência inferior, enquanto no óbito a anemia estava presente na maior parte dos pacientes. Com isso, foi levantada a hipótese do recebimento de concentrados de hemácias pelos pacientes durante a internação, o que carece de investigação e será elucidado em um estudo futuro.

Como relatado por Hadid *et al.*, tempo de protrombina está frequentemente elevado em casos severos de COVID-19, visto que o aumento progressivo do tempo de protrombina é considerado um preditor de mortalidade na COVID-19⁴⁸. Embora nosso estudo não tenha apresentado resultados com o tempo de protrombina dos pacientes, apresentamos a atividade de protrombina, que funciona de maneira semelhante ao tempo de protrombina e pode ser considerada uma forma alternativa de apresentar esse parâmetro laboratorial, tal que não foi significativamente alterada em nenhum dos 3 momentos analisados em nosso estudo. O tempo de tromboplastina, por sua vez, frequentemente está normal em casos de COVID-19⁴⁸, o que também foi verificado em nosso estudo, embora a média dos valores do tempo de tromboplastina, principalmente na admissão e óbito, estava limítrofe para o valor de referência inferior. Se o tratamento com anticoagulantes interferiu ou não nos resultados apresentados, ainda carece de investigação e será elucidado em um estudo futuro.

Em relação à contagem de plaquetas, o mais comum em pacientes de COVID-19 é que esse parâmetro laboratorial esteja normal ou pouco reduzido, sendo que a trombocitopenia pode ser encontrada em até cerca de 1/3 dos pacientes⁴⁸, o que se repetiu parcialmente em nosso estudo, visto que a média dos valores de plaquetas se manteve dentro da referência de normalidade na admissão e óbito, embora próxima do limite superior, entretanto foi identificada uma trombocitose pela média dos valores de plaquetas no pico dos pacientes. Talvez isso tenha ocorrido por uma possível intervenção médica com infusão de concentrado de plaquetas durante a internação dos pacientes, porém esse dado ainda carece de investigação e será elucidado em um estudo futuro.

Como descrito em uma meta-análise por Zinellu *et al.* o RNI tende a ser significativamente prolongado em pacientes severos ou que evoluem ao óbito por COVID-19, o que condiz com nossos dados, visto que o RNI dos pacientes envolvidos em nosso estudo esteve aumentado principalmente no pico e óbito, enquanto esteve no limite superior na admissão, o que está de acordo com a gravidade da doença dos pacientes analisados.

Níveis elevados de ureia e creatinina são preditores já descritos para a severidade na COVID-19⁵⁰ e estão frequentemente aumentados nesses casos, o que também pode ser verificado em nosso estudo, visto que a média dos valores séricos de ureia e creatinina estão significativamente elevados em todos os 3 momentos analisados.

A principal variante viral encontrada nos pacientes em nosso estudo foi a Gamma (P.1), tal que é a linhagem do SARS-CoV-2 originária da região norte do Brasil, na cidade de Manaus, na Amazônia, em dezembro de 2020⁵¹. A variante em questão é definida como uma variante de preocupação pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e está sendo monitorada desde 21 de setembro de 2021⁵¹. Um estudo na cidade de São José do Rio Preto, São Paulo, Brasil reportou que, após a introdução da variante Gamma na cidade, houve um rápido aumento da prevalência da variante em 2 meses após sua identificação, além de um acréscimo na mortalidade e risco de severidade, principalmente em pacientes mais jovens que ainda não haviam sido imunizados⁵². Estes dados estão de acordo com a faixa etária dos pacientes observados em nosso estudo e podem ter contribuído para a identificação da maior prevalência da variante Gamma em nosso estudo, porém as informações acerca da vacinação não foram possíveis de serem obtidas.

A data de início dos sintomas dos pacientes em nosso estudo variou de 30/01/2021 a 18/06/2021, e até junho de 2021, o CDC havia reportado a presença das variantes de preocupação Alpha, Beta, Gamma e Delta no Brasil⁵³, entretanto, em nosso estudo, somente as variantes de preocupação Gamma e Delta foram identificadas.

A variante Zeta (P.2) foi identificada pela primeira vez no sudeste do Brasil, especificamente no Rio de Janeiro, foi classificada pelo CDC como uma variante de interesse desde 26 de fevereiro de 2021 e colocada em monitoramento desde 21 de setembro de 2021⁵¹. Em nosso estudo, somente um paciente apresentou essa variante.

A variante Gamma não se apresentou restrita a uma região do Estado da Bahia e foi identificada em casos provenientes de Salvador, Conceição do Jacuípe e Santo Amaro da Purificação, o que sugere que a variante já se espalhou para a região metropolitana e para o interior do estado.

A técnica de autópsia minimamente invasiva guiada por ultrassom utilizada em nosso estudo pode ser uma ferramenta bastante vantajosa para o estabelecimento de correlações anatomoclínicas, melhoria da qualidade do tratamento médico e estudo de novas doenças^{5,6}, entretanto, pode trazer algumas desvantagens como a impossibilidade da avaliação macroscópica do órgão de interesse. Além disso, estudos de autópsia necessitam da aprovação dos familiares do paciente e devem ser realizados o mais próximo do óbito possível, principalmente quando serão coletados materiais para a biologia molecular, como em nosso caso. Devido ao luto e a burocracia necessária estressante, alguns pacientes acabam rejeitando o estudo, o que dificulta a obtenção de uma amostra mais robusta. A autópsia minimamente invasiva traz vantagens nesse cenário, visto que é mais rápida e pouco altera o cadáver esteticamente, o que deve auxiliar na aceitação das famílias e contribuir para a obtenção de um número maior de amostras.

Nosso estudo apresenta algumas limitações, entre as quais podemos citar a necessidade de recorrer ao prontuário eletrônico para a obtenção dos dados demográficos e clínicos, tal que depende do preenchimento da equipe assistencial responsável pelo paciente e, em alguns momentos, não conseguimos encontrar os dados que buscávamos ou havia pouco detalhamento das informações. Além disso, devido a recusa de pacientes e ao fato do estudo ser vinculado a somente um centro de referência, o nosso número amostral não é tão grande quanto esperávamos, o que tentaremos contornar em estudos futuros, visto que o projeto ainda está em andamento e esperamos obter uma amostra maior futuramente.

Em conclusão, nosso estudo analisou os dados demográficos e clínicos e identificou as variantes virais em 14 casos fatais de COVID-19 no estado da Bahia, no Brasil. Dessa forma, percebemos que a maior parte dos pacientes foi formada por homens, acima dos 50 anos, com a presença de comorbidades que morreram principalmente por insuficiência respiratória aguda. Em adição, os pacientes apresentaram mais frequentemente os sintomas de dispneia, febre, tosse, êmese e cefaleia, além de leucocitose com neutrofilia, trombocitose e RNI, ureia e creatinina

elevados. Identificamos a variante Gamma (P.1) como a mais prevalente em nossa amostra, seguida pela variante Delta (B.1.617.2) e Zeta (P.2).

7. FINANCIAMENTO

Esse projeto é financiado pela Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Gonçalo Moniz (IGM-FIOCRUZ), pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado da Bahia (FAPESB).

8. REFERÊNCIAS

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Timeline of WHO's response to COVID-19 [Internet]. [cited 2021 Jun 3]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/interactive-timeline>
2. (JHU) JHU. COVID-19 Dashboard [Internet]. [cited 2021 Jun 11]. Available from: <https://coronavirus.jhu.edu/map.html>
3. Prevention C for DC and. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions [Internet]. [cited 2021 Jun 11]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>
4. Roe FJC. Let's have a post-mortem. 1992;
5. Gulczyński J, Izycka-Świeszewska E, Grzybiak M. Short history of the autopsy: Part II From the second half of the 16th century to contemporary times. *Polish J Pathol.* 2010;61(3):169–75.
6. Fariña J, Millana C, Fdez-Aceñero JM, Furió V, Aragoncillo P, Martín VG, et al. Ultrasonographic autopsy (echopsy): A new autopsy technique. *Virchows Arch.* 2002;440(6):635–9.
7. Sarkodie SA, Owusu PA. Global assessment of environment, health and economic impact of the novel coronavirus (COVID-19). *Environ Dev Sustain* [Internet]. 2021;23(4):5005–15. Available from: <https://doi.org/10.1007/s10668-020-00801-2>
8. Su S, Wong G, Shi W, Liu J, Lai ACK, Zhou J, et al. Epidemiology, Genetic Recombination, and Pathogenesis of Coronaviruses. *Trends Microbiol* [Internet]. 2016;24(6):490–502. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tim.2016.03.003>
9. Lu R, Zhao X, Li J, Niu P, Yang B, Wu H, et al. Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10224):565–74. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30251-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30251-8)

10. Menachery VD, Graham RL, Baric RS. Jumping species—a mechanism for coronavirus persistence and survival. *Curr Opin Virol* [Internet]. 2017;23:1–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.coviro.2017.01.002>
11. Kim D, Lee JY, Yang JS, Kim JW, Kim VN, Chang H. The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell* [Internet]. 2020;181(4):914-921.e10. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.011>
12. Oran DP, Topol EJ. The Proportion of SARS-CoV-2 Infections That Are Asymptomatic. *Ann Intern Med*. 2021;174(5):655–62.
13. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72314 Cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2020;323(13):1239–42.
14. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet*. 2020;395(10223):497–506.
15. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, Rajagopalan H, O'Donnell L, Chernyak Y, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: Prospective cohort study. *BMJ*. 2020;369.
16. Yang X, Yu Y, Xu J, Shu H, Xia J, Liu H, et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med* [Internet]. 2020;8(5):475–81. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5)
17. Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* [Internet]. 2020;584(7821):430–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2521-4>
18. Cunningham JW, Vaduganathan M, Claggett BL, Jering KS, Bhatt AS, Rosenthal

- N, et al. Clinical Outcomes in Young US Adults Hospitalized with COVID-19. *JAMA Intern Med.* 2021;181(3):379–81.
19. Chow N, Fleming-Dutra K, Gierke R, Hall A, Hughes M, Pilishvili T, et al. Preliminary Estimates of the Prevalence of Selected Underlying Health Conditions Among Patients with COVID-19 - US, February 12-March 28, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* [Internet]. 2020;69(13):382–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32240123>.
 20. Harrison SL, Fazio-Eynullayeva E, Lane DA, Underhill P, Lip GYH. Comorbidities associated with mortality in 31,461 adults with COVID-19 in the United States: A federated electronic medical record analysis. *PLoS Med* [Internet]. 2020;17(9):1–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pmed.1003321>
 21. Lighter J, Phillips M, Hochman S, Sterling S, Johnson D, Francois F, et al. Obesity in patients younger than 60 years is a risk factor for Covid-19 hospital admission. *Cancer* [Internet]. 2020;46(May):1–17. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06023-4>
<https://doi.org/10.1016/j.ijid.2020.03.053>
[http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045\(20\)30310-7](http://dx.doi.org/10.1016/S1470-2045(20)30310-7)
 22. Tartof SY, Qian L, Hong V, Wei R, Nadjafi RF, Fischer H, et al. Obesity and Mortality Among Patients Diagnosed With COVID-19: Results From an Integrated Health Care Organization. *Ann Intern Med.* 2020;173(10):773–81.
 23. Lowe KE, Zein J, Hatipoğlu U, Attaway A. Association of Smoking and Cumulative Pack-Year Exposure With COVID-19 Outcomes in the Cleveland Clinic COVID-19 Registry. 2020;
 24. Peckham H, de Gruijter NM, Raine C, Radziszewska A, Ciurtin C, Wedderburn LR, et al. Male sex identified by global COVID-19 meta-analysis as a risk factor for death and ITU admission. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):1–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-19741-6>
 25. 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* [Internet]. 2020;323:2052–9. Available from: <https://jamanetwork.com/>
26. Onder G, Rezza G, Brusaferro S. Case-Fatality Rate and Characteristics of Patients Dying in Relation to COVID-19 in Italy. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323(18):1775–6.
 27. Chen T, Wu D, Chen H, Yan W, Yang D, Chen G, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: Retrospective study. *BMJ* [Internet]. 2020;368(March):1–14. Available from: <http://dx.doi.org/doi:10.1136/bmj.m1091>
 28. Kragholm K, Andersen MP, Gerds TA, Butt JH, Østergaard L, Polcwiartek C, et al. Association between male sex and outcomes of Coronavirus Disease 2019 (Covid-19) – a Danish nationwide, register-based study. 2014;2019:1–26.
 29. Stokes EK, Zambrano LD, Anderson KN, Marder EP, Raz KM, El Burai Felix S, et al. Coronavirus Disease 2019 Case Surveillance — United States, January 22–May 30, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2020;69(24):759–65.
 30. Wang D, Hu B, Hu C, Zhu F, Liu X, Zhang J, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients with 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;323(11):1061–9.
 31. Liotta EM, Batra A, Clark JR, Shlobin NA, Hoffman SC, Orban ZS, et al. Frequent neurologic manifestations and encephalopathy-associated morbidity in Covid-19 patients. *Ann Clin Transl Neurol.* 2020;7(11):2221–30.
 32. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet* [Internet]. 2020;395(10229):1033–4. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0)
 33. Rawson TM, Moore LS, Zhu N, Ranganathan N, Skolimowska K, Gilchrist M, et al. Bacterial and fungal co-infection in individuals with coronavirus: A rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing.

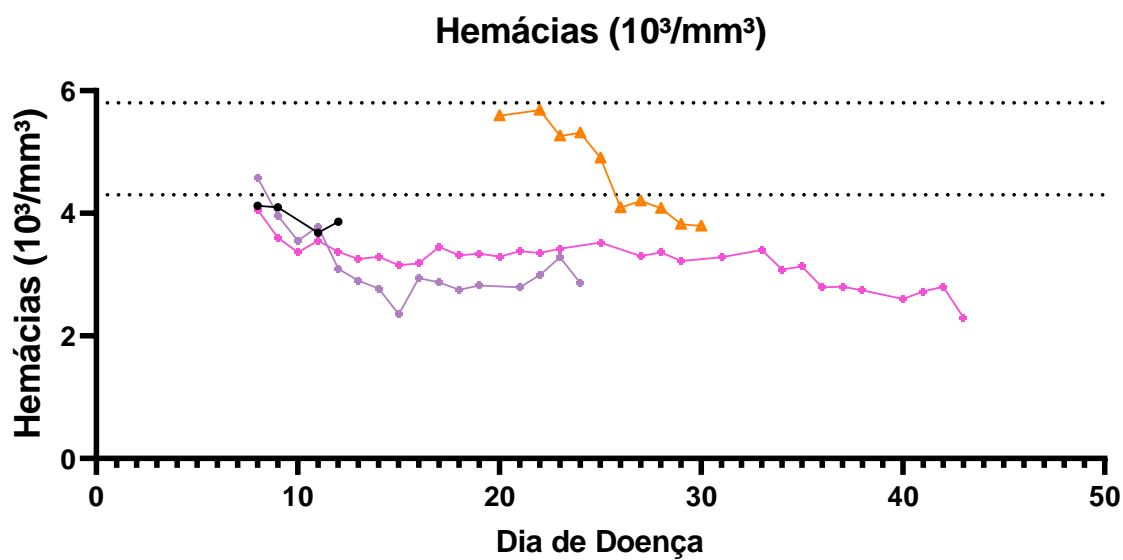
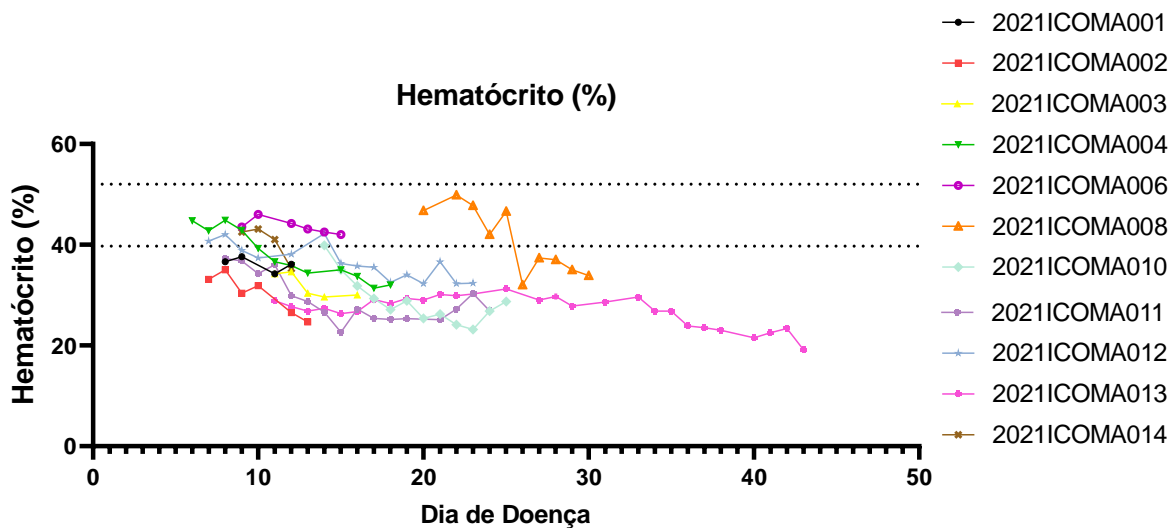
34. Tian S, Xiong Y, Liu H, Niu L, Guo J, Liao M, et al. Pathological study of the 2019 novel coronavirus disease (COVID-19) through postmortem core biopsies. *Mod Pathol* [Internet]. 2020;33(6):1007–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41379-020-0536-x>.
35. Nienhold R, Ciani Y, Koelzer VH, Tzankov A, Haslbauer JD, Menter T, et al. Two distinct immunopathological profiles in autopsy lungs of COVID-19. *Nat Commun* [Internet]. 2020;11(1):1–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-18854-2>.
36. Cheng L, Han X, Zhu Z, Qi C, Wang P, Zhang X. Functional alterations caused by mutations reflect evolutionary trends of SARS-CoV-2. *Brief Bioinform*. 2021;22(2):1442–50.
37. Scott A, Chambers R, Reimbaeva M, Atwell J, Baillon-Plot N, Draica F, et al. Real-world retrospective analysis of patient characteristics, healthcare resource utilization, costs, and treatment patterns among unvaccinated adults with COVID-19 diagnosed in outpatient settings in the United States. *J Med Econ* [Internet]. 2022;25(1):287–98. Available from: <https://doi.org/10.1080/13696998.2022.2037917>.
38. Edler C, Schröder AS, Aepfelbacher M, Fitzek A, Heinemann A, Heinrich F, et al. Dying with SARS-CoV-2 infection — an autopsy study of the first consecutive 80 cases in Hamburg , Germany. 2020;1275–84..
39. IBGE | Cidades@ | Bahia | Pesquisa | Pesquisa Nacional de Saúde | Acidentes, violência, doenças transmissíveis, atividade sexual, características do trabalho e apoio social</i>. (n.d.). Retrieved May 6, 2022, from <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/pesquisa/47/48940>
40. Contou, D., Cally, R., Sarfati, F., Desaint, P., Fraissé, M., & Plantefève, G. (2020). <i>Prolonged prone position ventilation for SARS-CoV-2 patients is feasible and effective</i>. <https://doi.org/10.1186/s13054-021-03492-x>
41. Elsoukkary SS, Mostyka M, Dillard A, Berman DR, Ma LX, Chadburn A, et al. Autopsy Findings in 32 Patients with COVID-19: A Single-Institution Experience. *Pathobiology*. 2021;88(1):56–68.

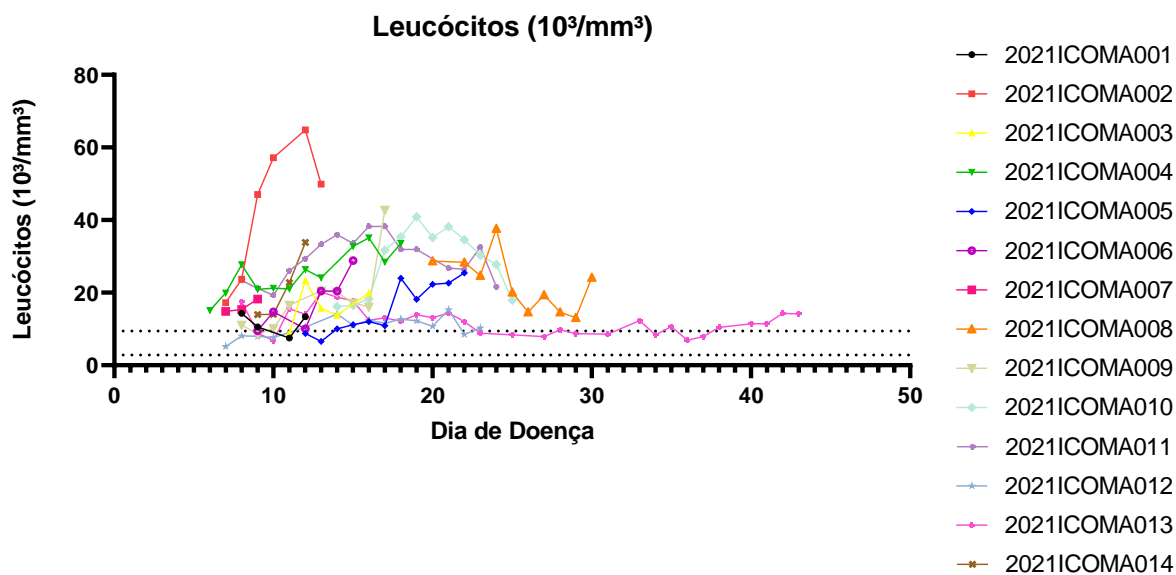
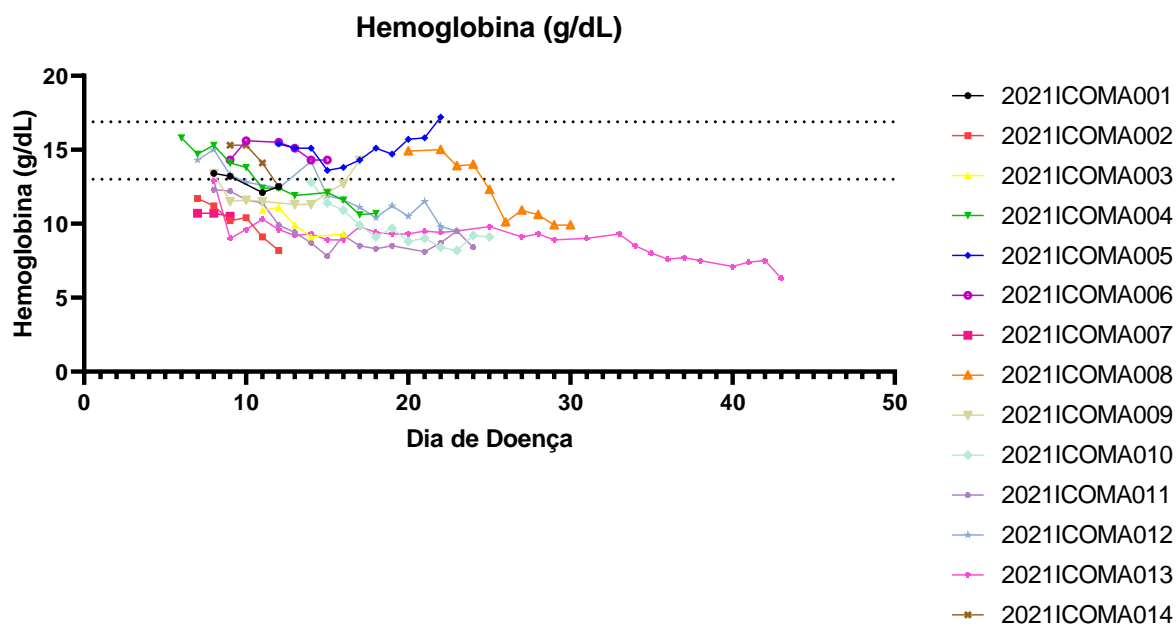
42. Yao XH, Luo T, Shi Y, He ZC, Tang R, Zhang PP, et al. A cohort autopsy study defines COVID-19 systemic pathogenesis. *Cell Res* [Internet]. 2021;31(8):836–46. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41422-021-00523-8>
43. D’Onofrio V, Keulen L, Vandendriessche A, Dubois J, Cartuyvels R, Vanden Abeele ME, et al. Studying the clinical, radiological, histological, microbiological, and immunological evolution during the different COVID-19 disease stages using minimal invasive autopsy. *Sci Rep* [Internet]. 2022;12(1):1–12. Available from: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-05186-y>
44. Hirschbühl K, Dintner S, Beer M, Wylezich C, Schlegel J, Delbridge C, et al. Viral mapping in COVID-19 deceased in the Augsburg autopsy series of the first wave: A multiorgan and multimethodological approach. *PLoS One*. 2021;16(7 July):1–21.
45. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Clinical Guidance for Management of Patients with Confirmed Coronavirus Disease (COVID-19). *Centers Dis Control Prev*. 2020;2019(3):1–10.
46. Araya S, Wordofa M, Mamo MA, Tsegay YG, Hordofa A, Negesso AE, et al. The magnitude of hematological abnormalities among covid-19 patients in Addis Ababa, Ethiopia. *J Multidiscip Healthc*. 2021;14:545–54.
47. Zhang ZL, Hou YL, Li DT, Li FZ. Laboratory findings of COVID-19: a systematic review and meta-analysis. Vol. 80, *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2020. p. 441–7.
48. Hadid T, Kafri Z, Al-Katib A. Coagulation and anticoagulation in COVID-19. *Blood Rev* [Internet]. 2021;47:100761. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100761>
49. Zinellu A, Paliogiannis P, Carru C, Mangoni AA. INR and COVID-19 severity and mortality: A systematic review with meta-analysis and meta-regression. *Adv Med Sci* [Internet]. 2021;66(2):372–80. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.advms.2021.07.009>
50. Mudatsir M, Wulandari L, Fajar JK, Soegiarto G, Ilmawan M, Purnamasari Y, et

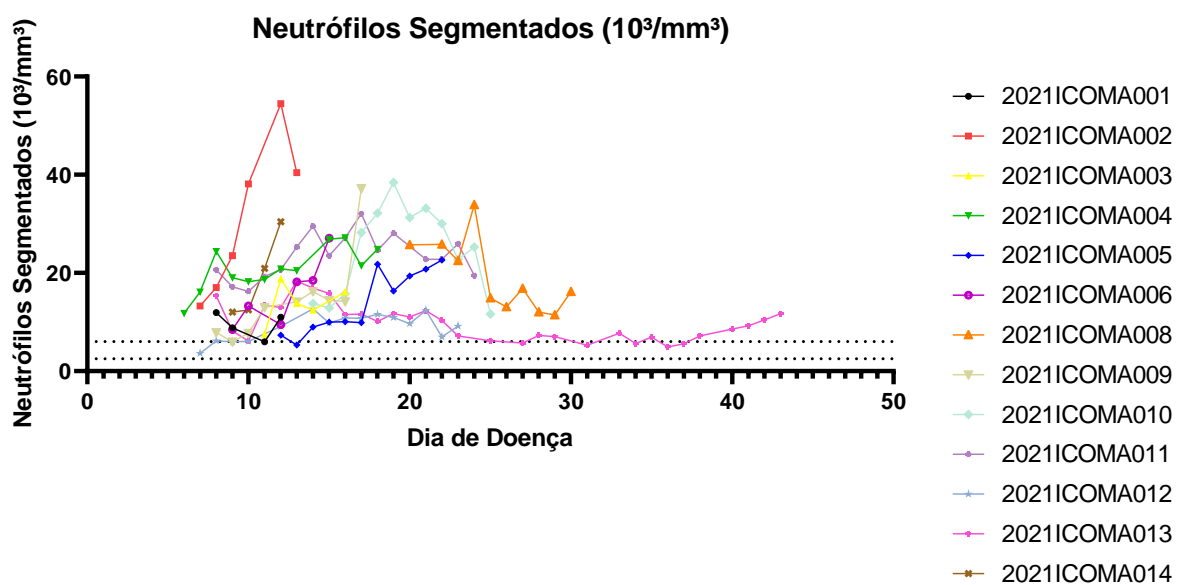
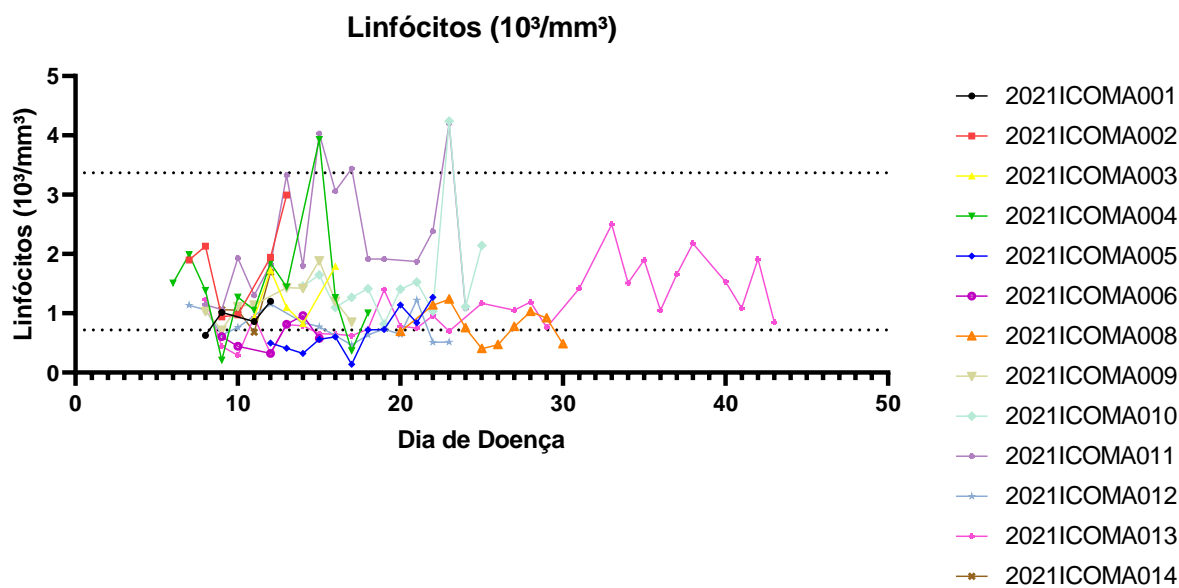
- al. Predictors of COVID-19 severity: A systematic review and meta-analysis. *F1000Research*. 2020;9:1–26.
51. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. (n.d.). Retrieved May 6, 2022, from <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/variants/variant-classifications.html>
52. Banho CA, Sacchetto L, Campos GRF, Bittar C, Possebon FS, Ullmann LS, et al. Impact of SARS-CoV-2 Gamma lineage introduction and COVID-19 vaccination on the epidemiological landscape of a Brazilian city. *Commun Med*. 2022;2(1):1–11.
53. World Health Organization. Coronavirus Disease (COVID-19) Weekly Epidemiological Update 20 June 2021. *World Heal Organ [Internet]*. 2021;(June):1–23. Available from: <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---22-june-2021>

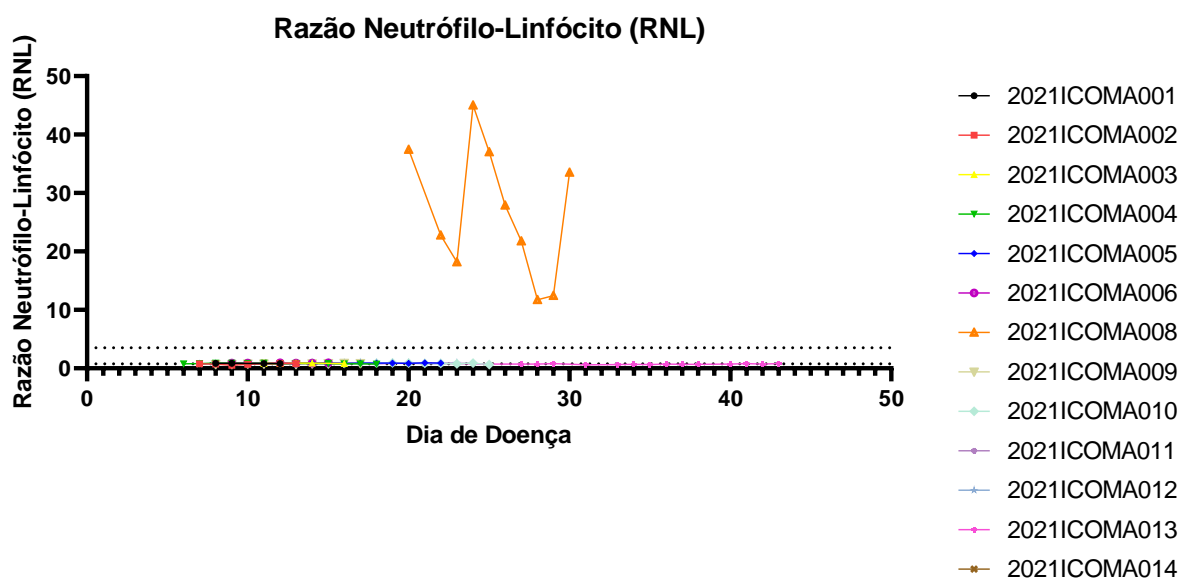
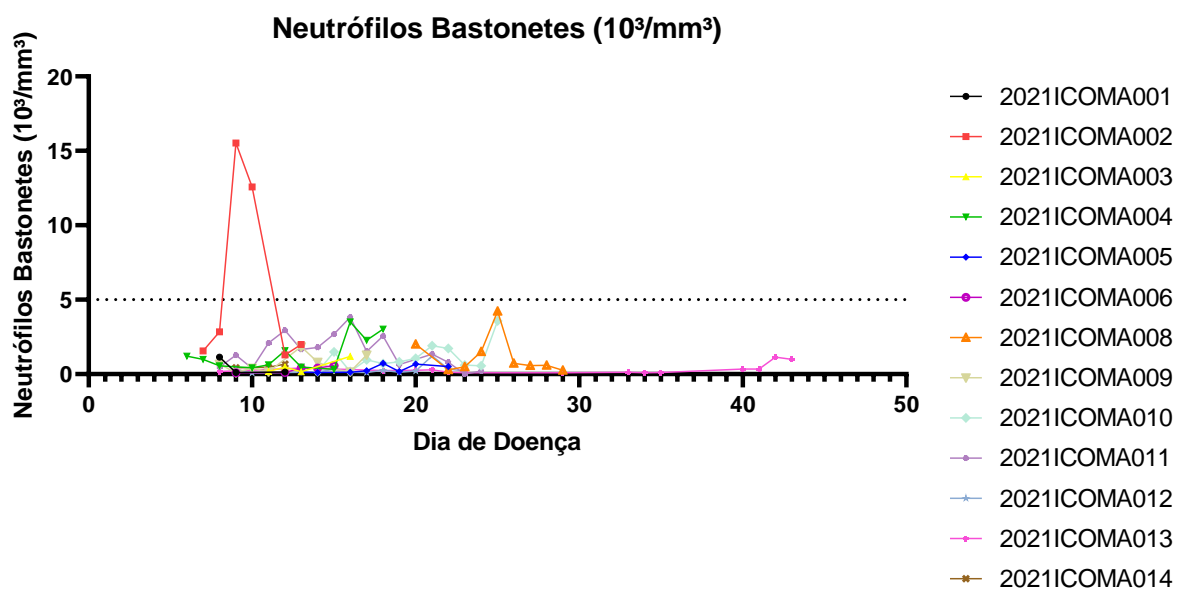
9. APÊNDICE

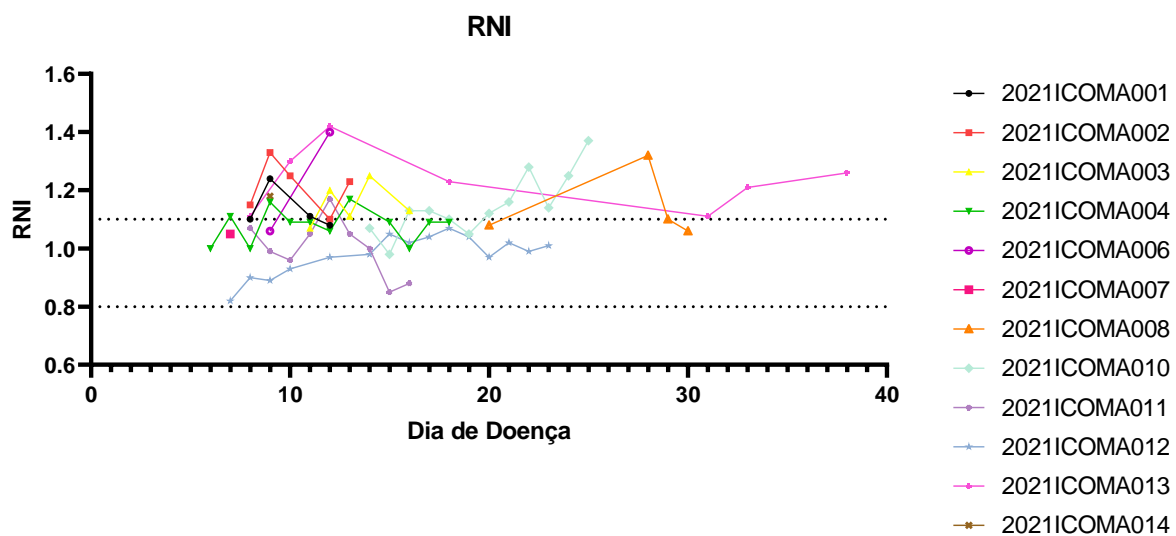
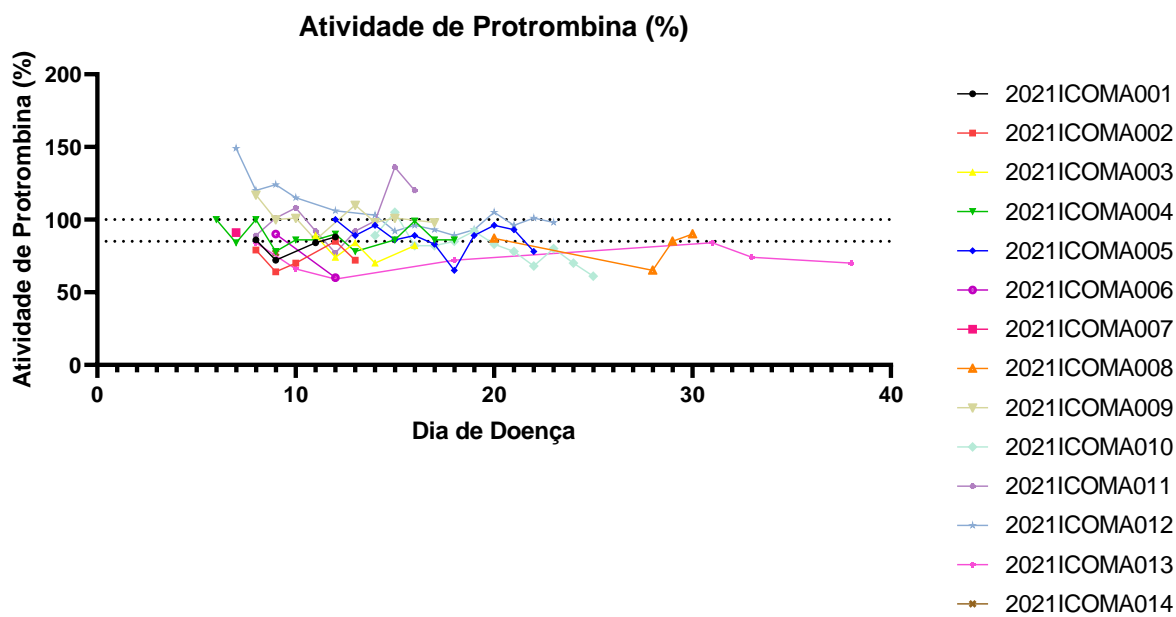
9.1. Gráficos do Curso dos Dados Laboratoriais

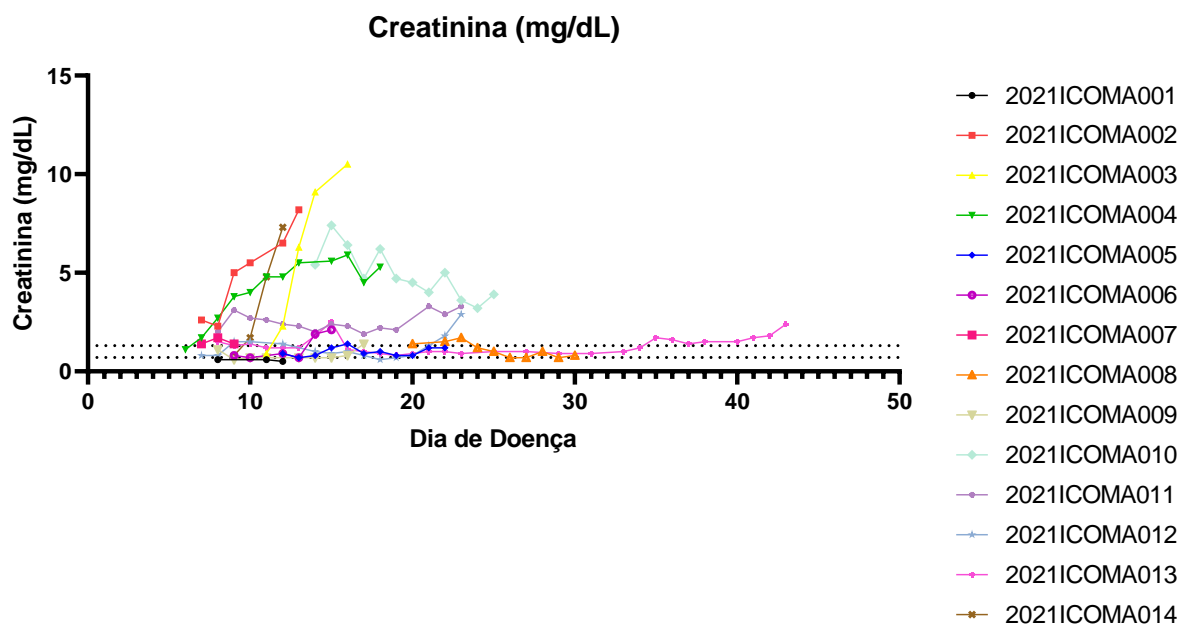
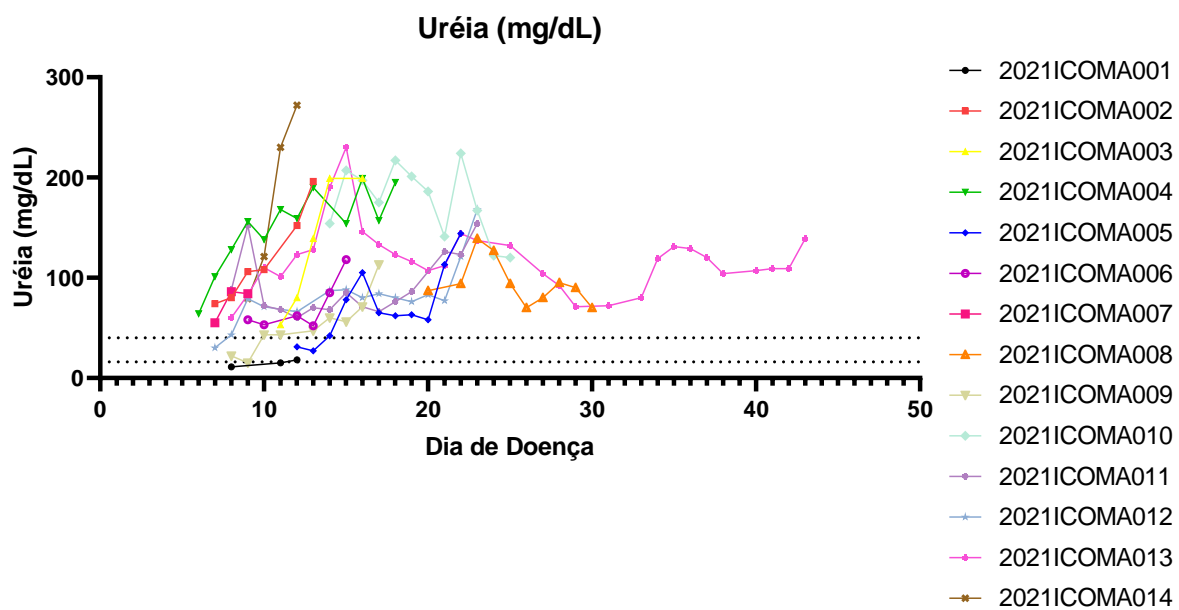












10. ANEXOS

10.1. Parecer do CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: COVPEM - RESPOSTA IMUNOINFLAMATÓRIA IN SITU ASSOCIADA A FORMAS GRAVES DA COVID-19

Pesquisador: WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 5

CAAE: 30607920.3.0000.0040

Instituição Proponente: Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz - CPqGM/ FIOCRUZ/ BA

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado da Bahia - FAPESB
Fundação Oswaldo Cruz

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.526.485

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1689700_E2.pdf, de 19/01/2021).

INTRODUÇÃO

Há poucas informações sobre as alterações nos sítios de lesão dos órgãos afetados pela COVID-19 e isso constitui uma grande limitação para a concepção de terapêuticas adequadas e para a definição de testes que indiquem precocemente o risco de progressão para doença grave. Os relatos presentes na literatura científica, um de necrópsia e outro de biópsias, de pacientes com COVID-19 mostram um infiltrado inflamatório intersticial linfocitário com hiperplasia e alterações citopáticas virais em pneumócitos (1)(2). Dados preliminares de quatro casos autopsiados no HCFMUSP mostram dano alveolar difuso exsudativo, lesão citopática epitelial difusa, mínima resposta linfocitária e pneumonia supurativa, sugerindo relevante coinfeção por bactérias. Esses dados mostram que as alterações associadas ao COVID-19 apresentam um espectro variado. Há evidências de que as alterações inflamatórias no pulmão estejam associadas a diminuição da quantidade de células CD4+ e CD8+ no sangue periférico, elevados níveis de IL-17 e proporção de

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 4.526.485

células CD8 com grânulos de perforina. Adicionalmente, há desestruturação do tecido linfoide esplênico, revelando o caráter sistêmico da doença (1). Propomos neste estudo, a realização de necrópsias minimamente invasivas (3) em pacientes que forem a óbito em decorrência de COVID-19 e coleta de amostras do pulmão, coração, fígado, baço, rim, linfonodos, intestino e músculo esquelético. Fragmentos de tecido desses órgãos serão coletados em condições que permitam a utilização em estudos morfológicos e moleculares, incluindo imunohistoquímica, microscopia eletrônica, estudo da expressão gênica em larga escala e microdissecção a laser para exame da expressão gênica em regiões definidas. Serão identificados os compartimentos subcelulares dos pneumócitos lesados, as populações celulares envolvidas na resposta ao vírus, e será traçado o perfil de expressão tecidual de citocinas inflamatórias e outras moléculas envolvidas no processo. O estudo desse material contribuirá para a caracterização das lesões associadas a COVID-19. Espera-se com esses estudos demonstrar a gravidade das lesões em diferentes órgão e tecidos, identificar potenciais mecanismos de lesão associada a COVID-19, elucidar comorbidades que, especificamente, possam contribuir para os desfechos fatais, incluindo eventuais efeitos colaterais associados às terapias adotadas. A proposta conta com uma equipe multidisciplinar constituída por dois patologistas, clínicos, radiologistas, biólogos e histotecnologistas com experiência em anatomia patológica, biologia molecular, imunologia, biologia de sistemas. Pelo menos 10 necropsias minimamente invasivas serão realizadas no curso do projeto. Os resultados das análises histológicas serão liberados em tempo real na página do Instituto Gonçalo Moniz, para informação imediata da comunidade medico-científica, possibilitando eventuais adequações terapêuticas.

METODOLOGIA

a) Pacientes e amostras: Trata-se de uma amostra de conveniência incluindo pelo menos 10 pacientes falecidos com o diagnóstico de COVID-19, do Hospital Couto Maia e Hospital Espanhol, ambos da rede pública do Estado da Bahia e designado com Centros de Referência para a situação específica da COVID-19 com ampla infra-estrutura e corpo clínico preparado para a assistência aos pacientes com COVID-19); 10 pacientes falecidos com o diagnóstico de Síndrome Respiratória Aguda e 10 pacientes que foram a óbito por morte violenta ou outras causas que não COVID19, do Instituto Médico Legal Nina Rodrigues do Estado da Bahia, que familiares ou responsáveis legais tenham consentido com a participação no estudo, para coleta de tecidos por agulha pós-morte. Fragmentos de baço, fígado, linfonodo axilar ou cervical, pulmão e rim serão coletadas por técnica de biópsia transcutânea minimamente invasiva por agulha de calibre 14-gauge, guiada por

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.719-040
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 4.526.485

ultrassom.

b) **Necrópsia Minimamente Invasiva Guiada Por ultrassom:** As NMI-US serão realizadas por radiologistas com treinamento em radiologia intervencionista ou sob supervisão destes. Os fragmentos dos órgãos a serem estudados serão obtidos por meio de punção com agulha de 14-gauge (cerca de 1,6 mm de diâmetro interno) e terão entre 2-4cm de comprimento.

c) **Histologia convencional:** Os fragmentos de tecido coletados para estudos histológicos serão fixados em solução de paraformaldeído 4% de 24-48h à temperatura ambiente. Fragmentos de tecido serão acondicionados em cassetes de processamento histológico em solução de álcool 70%. Em seguida, serão embebidos em parafina e seccionados com 3-4 m de espessura e coradas em hematoxilina e eosina. Análise das alterações teciduais será feita por pelo menos dois patologistas para identificação, estimativa da intensidade e classificação dos infiltrados inflamatórios, granuloma (agregado focal de quarto ou mais macrófagos epitelióides), presença de inclusões virais, fibrose e degeneração celular.

d) **Microscopia eletrônica:** Fragmentos de 1 a 3 mm³ de tecidos serão fixados em glutaraldeído a 2,5% em tampão cacodilato de sódio 0,2M, pH 7,4, pós-fixadas de tetróxido de ósmio e incluídas em resina. Secções de tecidos serão feitas em cortes semifinos, com 0,5 a 1,0 µm e cortes ultrafinos, com 60 a 90 nm. A análise será feita para fins de localização de partícula viral no tecido e/ou célula, bem como avaliar alterações significativas em nível subcelular das células infectadas. Hibridização in situ: Técnica de RNA scope será realizada para pesquisa de sítios de interação entre coronavírus e células produtoras de citocinas pro- e antiinflamatórias, a partir dos fragmentos de tecido previamente coletados para estudos histológicos, seccionados a 3-4 m de espessura em lâminas preparadas com solução adesiva.

e) **Microdissecção a laser:** Áreas de interação entre coronavírus e células residentes de tecidos, áreas de granuloma ou infiltrados inflamatórios importantes que forem identificados na análise morfológica serão microdissecados do tecido para pesquisa de perfil genético de citocinas, quimiocinas ou proteínas de interesse.

f) **Análise transcriptômica:** Amostras de tecidos serão coletadas em 1mL trizol e armazenadas em nitrogênio líquido. Posterior extração de RNA será realizada utilizando kit de extração RNAeasy (Qiagen) seguindo as instruções do fabricante. O material será submetido a sequenciamento por técnica de RNA-seq.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Pacientes falecidos por COVID-19 em que a família tenha concedido permissão para participação

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASÍLIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 4.526.485

no estudo.

Indivíduos falecidos por morte violenta ou outras causas, sendo COVID-19 ou não, submetidos ao exame de verificação de óbito (SVO) do Instituto de Medicina Legal do Estado da Bahia, que a família tenha concedido permissão para participação no estudo.

Objetivo da Pesquisa:**OBJETIVO PRIMÁRIO**

Definir marcadores de desfecho de formas graves e morte em pacientes com COVID-19 pelo estudo das lesões teciduais.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- a) Organizar um programa de necropsias minimamente invasivas em pacientes que forem a óbito por COVID-19 em Salvador, Bahia;
- b) Identificar e descrever as alterações nos tecidos do pulmão, coração, fígado, baço, rim, linfonodos, intestino e músculo esquelético associadas a COVID-19;
- c) Definir as populações celulares, citocinas, outras moléculas inflamatórias potencialmente na gravidade da doença;
- d) Correlacionar os dados clínicos, com as alterações morfológicas e moleculares como base para redirecionamento das estratégias terapêuticas e definição de marcadores biológicos de desfecho da doença.
- e) Formação de uma equipe habilitada para dar suporte de estudos morfológicos em situação de agravos emergentes e reemergentes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**RISCOS**

A autópsia minimamente invasiva é um procedimento que limita os riscos decorrentes da coleta de amostras de órgãos internos dos cadáveres. O procedimento precisa obedecer às diretrizes hospitalares já definidas para o tratamento dos cadáveres. Este procedimento tem sido utilizado com segurança em epidemias causadas por vírus de alto risco como HIV, da febre amarela e recentemente, COVID-19 (3)(4). Um dos colaboradores deste projeto tem importante experiência e contribuição científica na área.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.526.485

BENEFÍCIOS

A execução deste projeto permitirá:

- a) Criação de um grupo técnico multidisciplinar capaz de atuar na coleta e processamento de amostras teciduais humanas em condições de emergência e re-emergência de doenças infecciosas graves e fatais. Isso permitirá a rápida mobilização e obtenção de informações para o diagnóstico e redirecionamento terapêutico e prevenção de óbitos;
- b) Produção de informações em tempo real sobre a natureza das lesões relacionadas a gravidade e ao óbito de pacientes que poderão ser utilizadas para melhor adequação das condutas terapêuticas;
- c) Criação de um banco de amostras de material dos sítios das lesões, possibilitando estudos sobre patogênese e mecanismos de doença e gravidade;
- d) Formação de recursos humanos: participam no estudo pós doutorandos, doutorandos e alunos dos vários níveis de formação científica, permitindo a replicação de conhecimento e disponibilidade de indivíduos capacitados para atuação em condições semelhantes a que vivenciamos no momento.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Emenda 02

JUSTIFICATIVA: Este adendo tem por objeto a inclusão de Lillian Verena da Silva Carvalho colaboradora na execução do projeto COVPEM. Essa inclusão é necessária para aprimorar a logística de captação de prováveis participantes da pesquisa, uma vez que ela irá coordenar e auxiliar as equipes hospitalares na aplicação de TCLE, assim como fará comunicação de óbito para a equipe laboratorial e de coleta.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.526.485

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontrados óbices éticos nos documentos da emenda.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Situação: Emenda aprovada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|--|---|------------------------|--|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_168970_0_E2.pdf | 19/01/2021 11:04:04 | | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | COVPEMFAPESBPROJETO_19012021.docx | 19/01/2021 11:03:11 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Outros | ADENDO_AO_PROJETO_COVPEM_inclusao_membro.docx | 19/01/2021 11:02:00 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Outros | Carta_resposta_CONEP_1409.pdf | 14/09/2020 16:55:00 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | COVPEMFAPESBPROJETO_28_08_2020.pdf | 31/08/2020 11:32:09 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Outros | ADENDO_AO_PROJETO_COVPEM_IMLNRv202008.docx | 24/08/2020 17:09:09 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Instituição e Infraestrutura | Declaracao_anuencia_IML.pdf | 24/08/2020 17:07:10 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Orçamento | COVPEMFAPESBORCAMENTO.pdf | 08/04/2020 12:21:48 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | COVPEMFAPESBPROJETO.pdf | 08/04/2020 12:21:32 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| TCLE / Termos de | COVPEMTCLEBXPOSMORTE.docx | 08/04/2020 | WASHINGTON LUIS | Aceito |

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.526.485

| | | | | |
|--|---------------------------|------------------------|--|--------|
| Assentimento / Justificativa de Ausência | COVPEMTCLEBXPOSMORTE.docx | 12-20:34 | CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOCAROLINE.pdf | 08/04/2020 12:19:56 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de concordância | DECLARACAOESPANHOL.pdf | 08/04/2020 12:18:29 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOBADARO.pdf | 08/04/2020 12:17:05 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOJONATHAN.pdf | 08/04/2020 12:16:44 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOJEANNE.pdf | 08/04/2020 12:15:14 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOISADORA.pdf | 08/04/2020 12:15:03 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Declaração de Pesquisadores | DECLARACAOFREITAS.pdf | 08/04/2020 12:14:50 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |
| Folha de Rosto | COVPEM2020CEPFOLHA.pdf | 08/04/2020 12:11:14 | WASHINGTON LUIS CONRADO DOS SANTOS | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 05 de Fevereiro de 2021

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
 Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040
 UF: DF Município: BRASILIA
 Telefone: (61)3315-5877 E-mail: conep@saude.gov.br