

ELIANA TELES DE GOIS

Perfis Imunológicos Basais Predizem Infecção por COVID-19 e Desfechos Clínicos
entre Profissionais de Saúde: Evidências de um Estudo de Coorte Prospectivo no
Brasil

BRASÍLIA, 2025



Universidade de Brasília

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

ELIANA TELES DE GOIS

Perfis Imunológicos Basais Predizem Infecção por COVID-19 e Desfechos Clínicos
entre Profissionais de Saúde: Evidências de um Estudo de Coorte Prospectivo no
Brasil

Tese apresentada como requisito
parcial para a obtenção do título de Doutora em
Ciências Médicas pelo Programa de Pós-
Graduação em Ciências Médicas da
Universidade de Brasília.

Orientador: Otávio de Toledo Nóbrega

BRASÍLIA, 2025

ELIANA TELES DE GOIS

Perfis Imunológicos Basais Predizem Infecção por COVID-19 e Desfechos Clínicos
entre Profissionais de Saúde: Evidências de um Estudo de Coorte Prospectivo no
Brasil

Tese apresentada como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutora em Ciências
Médicas pelo Programa de Pós-Graduação em
Ciências Médicas da Universidade de Brasília.

Aprovada em 19 de agosto de 2025

BANCA EXAMINADORA

Prof. Otávio de Toledo Nóbrega (presidente)

Universidade de Brasília

Prof. Enrique Roberto Argañaraz (1º membro interno)

Universidade de Brasília

Prof. Dr. Jarbas de Sa Roriz Filho (1º membro externo)

Universidade federal do Ceará

Prof. Renato Gorga Bandeira de Mello (2º membro externo)

Universidade federal do Rio Grande do Sul

Prof. Einstein Francisco de Camargos (Suplente)

Universidade de Brasília

*Dedico esse trabalho a todos os falecidos e sequelados pela Covid-19, bem como
seus familiares.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus, a Verdade, pois foi movida pelo anseio de compreender as verdades sobre a COVID-19 que me ofereci para colaborar nas pesquisas sobre essa doença que, de forma abrupta e devastadora, virou o mundo de cabeça para baixo. Em meio à pandemia, marcada por incertezas, desespero, calamidade e inúmeras perdas, despertou em mim um desejo profundo de salvar vidas e desvendar os mecanismos dessa enfermidade, com o propósito de evitar mais sofrimento, sequelas e mortes.

Foi nesse cenário desafiador que surgiu a oportunidade de realizar o doutorado. Para escrevê-lo, foram necessários, literalmente, sangue, suor e lágrimas. Tudo isso, talvez, para registrar apenas uma linha na vasta literatura médica. No entanto, o aprendizado proporcionado por essa jornada foi imensuravelmente maior, e por isso estou profundamente grata. Tivemos que “trocar a roda com o carro em movimento”, enfrentando incertezas e urgências ao mesmo tempo. Foi inspirador testemunhar a mobilização de pesquisadores em todo o mundo, unidos pelo esforço coletivo de compreender uma doença tão complexa. Para mim, foi uma honra poder contribuir com a produção científica sobre a COVID-19, ao mesmo tempo em que mantinha o compromisso com o cuidado direto de inúmeros pacientes. Aprendi que fazer um doutorado é, antes de tudo, aceitar a humildade do não saber e reconhecer que a busca pelo conhecimento exige estudo contínuo, experimentação rigorosa, análise crítica e a formulação constante de novas hipóteses. É uma caminhada permanente na direção da Verdade.

Contei com o apoio generoso de muitas pessoas, mas foi, sobretudo, a ajuda divina que sustentou meus passos, auxílio que chegou por meio da intercessão amorosa de Nossa Senhora e de São João Paulo II, cuja vida me inspira, todos os dias, a ser alguém melhor. Como católica, creio que ambos estão junto de Deus e, sendo Deus a própria Verdade, confiei-lhes, com fé e esperança, a conclusão deste doutorado.

Expresso minha mais profunda gratidão à minha família, alicerce de amor e fortaleza nos dias incertos. Aos meus pais, meu esposo, meus filhos, minhas irmãs, cunhados, sogra e sobrinhos, agradeço por cada gesto de paciência, cada palavra de encorajamento e todo o apoio incondicional ao longo desta jornada. Aos meus amigos,

verdadeiros tesouros que Deus semeou em minha vida, sou grata por encherem os dias de leveza, riso e sentido. E aos profissionais da saúde que cuidaram de mim com dedicação nos momentos em que o corpo fraquejou, deixo meu reconhecimento sincero: foram mãos estendidas quando precisei de amparo para continuar.

Registro minha profunda gratidão aos dedicados funcionários do Hospital Universitário de Brasília (HUB), cuja generosidade e comprometimento foram essenciais tanto na participação desta pesquisa quanto na incansável assistência prestada aos pacientes com COVID-19.

Ao Prof. Otávio, meu orientador, agradeço imensamente pela orientação precisa, pela escuta atenta, pela sabedoria e pela paciência constante ao longo de todo o desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Olindo, manifesto minha sincera admiração por sua rigorosidade científica, inteligência aguçada e dedicação exemplar a este estudo e a tantos outros que contribuíram significativamente para o entendimento da pandemia. À toda a equipe da Fiocruz, pela sua competência, profissionalismo e rigor científico, em especial ao Vitor Miranda, por toda a sua dedicação, paciência e ajuda durante a confecção do artigo. À Profa. Lícia, mulher admirável e fonte de inspiração, agradeço por sua liderança generosa e por ser, para nós, reumatologistas de Brasília, uma verdadeira referência. À Profa. Laila, sou grata por seu olhar visionário, que reconheceu, nas amostras utilizadas neste estudo, uma oportunidade singular de investigação. À Patrícia Shu e ao Prof. Ciro, deixo meus sinceros agradecimentos pela competência, comprometimento e determinação com que conduziram o projeto Target, contribuindo decisivamente para a concretização desta pesquisa.

A todos vocês, meu mais profundo reconhecimento e apreço.

*"A fé e a razão são como as duas asas com as quais o espírito humano se eleva
para a contemplação da verdade."*

São João Paulo II, Fides et Ratio, 1998

RESUMO

Este estudo analisou o perfil basal de mediadores imunológicos séricos em funcionários do Hospital Universitário de Brasília com o objetivo de identificar padrões imunológicos preditores da infecção por COVID-19, bem como de seus desfechos clínicos e a sua associação com a idade dos participantes. Foram incluídos 386 indivíduos com diagnóstico negativo para COVID-19 no momento da coleta e previamente a ela, acompanhados por até 19 meses em estudo observacional prospectivo. As concentrações séricas de quimiocinas (CXCL8, CCL11, CCL3, CCL4, CCL2, CCL5, CXCL10), citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IFN- γ , IL-15, IL-17) e reguladoras (IL-1Ra, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13) e fatores de crescimento (FGF-básico, PDGF, VEGF, G-CSF, GM-CSF, IL-2, IL-7) foram quantificadas por ensaio multiplex de alta capacidade. Os participantes foram categorizados conforme o diagnóstico prospectivo de COVID-19 [COVID-19 (-) e COVID-19 (+)], o tempo decorrido até o diagnóstico, os desfechos clínicos da infecção (presença, gravidade e duração dos sintomas) e as faixas etárias dos participantes. Os resultados demonstraram que os indivíduos que evoluíram com COVID-19 apresentavam níveis basais significativamente mais elevados dos mediadores imunológicos estudados em comparação ao grupo não infectado, sendo essa diferença inversamente proporcional ao tempo até o diagnóstico. GM-CSF, IL-5, VEGF, IL-13, CCL11 e IL-10 destacaram-se por apresentarem os maiores valores de fold change no grupo COVID-19 (+). As assinaturas imunológicas e as análises de redes corroboraram esses achados, evidenciando maior correlação entre mediadores nesse grupo, especialmente entre os indivíduos com diagnóstico precoce e formas clínicas sintomáticas leves de curta duração. Análises multivariadas e modelos de árvore de decisão identificaram GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α como principais preditores de infecção, além da associação consistente de G-CSF com quadros graves e sintomas persistentes. Conclui-se que o perfil basal de mediadores imunológicos séricos possui potencial preditivo robusto para a ocorrência futura de COVID-19 e seus desfechos clínicos, podendo subsidiar estratégias mais eficazes de prevenção e prognóstico.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19; SARS-CoV-2; preditores; resposta imune; biomarcadores imunológicos; mediadores imunológicos solúveis séricos; quimiocinas; citocinas; fatores de crescimento

ABSTRACT

This study analyzed the baseline profile of serum immune mediators in employees from the University Hospital of Brasília aiming to identify immunological patterns predictive of COVID-19 infection, as well as its clinical outcomes and their association with participants' age. A total of 386 individuals with a negative diagnosis for COVID-19 at and prior to the time of sample collection were included and followed for up to 19 months in a prospective observational study. Serum concentrations of chemokines (CXCL8, CCL11, CCL3, CCL4, CCL2, CCL5, CXCL10), pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IFN- γ , IL-15, IL-17), regulatory cytokines (IL-1Ra, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13), and growth factors (basic FGF, PDGF, VEGF, G-CSF, GM-CSF, IL-2, IL-7) were quantified using a high-throughput multiplex assay. Participants were categorized according to their prospective COVID-19 diagnosis [COVID-19 (–) and COVID-19 (+)], time elapsed until diagnosis, clinical outcomes (presence, severity, and duration of symptoms), and age group. Results showed that individuals who later developed COVID-19 presented significantly higher baseline levels of the analyzed immune mediators compared to the non-infected group, with this difference being inversely proportional to the time until diagnosis. GM-CSF, IL-5, VEGF, IL-13, CCL11, and IL-10 stood out for exhibiting the highest fold change values in the COVID-19 (+) group. Immunological signatures and network analyses supported these findings, revealing stronger correlations among mediators in this group, especially in individuals with early diagnosis and mild symptomatic forms of short duration. Multivariate analyses and decision tree models identified GM-CSF, CCL11, CXCL10, and TNF- α as key predictors of infection, in addition to a consistent association of G-CSF with severe disease and prolonged symptoms. In conclusion, the baseline profile of serum immune mediators holds robust predictive potential for future COVID-19 diagnosis and related clinical outcomes, offering valuable support for more effective prevention and prognostic strategies.

KEYWORDS: COVID-19; SARS-CoV-2; predictors; immune response; immune biomarkers; serum soluble immunemediators; chemokines; cytokines; growth factors

LISTAS DE FIGURAS

Figura 1. Compêndio da população do estudo, estratégias de subagrupamento, métodos e resultados do estudo

Figura 2. Perfil panorâmico basal dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19

Figura 3. Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico prospectivo de COVID-19

Figura 4. Magnitude e a significância do fold change dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19 e o tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19

Figura 5. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico prospectivo de COVID-19

Figura 6. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo desfechos clínicos no subgrupo com diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19

Figura 7. Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos

Figura 8. Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação de subgrupos de indivíduos segundo o diagnóstico, o tempo da coleta da amostra até o diagnóstico, os desfechos de COVID-19 e as faixas etárias

Figura 9. Desempenho dos mediadores imunológicos séricos na classificação de indivíduos segundo o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos

Figura 10. Algoritmos de árvores de decisão utilizando mediadores imunológicos séricos basais para classificar indivíduos segundo o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e seus desfechos clínicos

Figura 11. Perfil geral dos mediadores imunológicos séricos basais de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 em diferentes faixas etárias

Figura 12. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 em diferentes faixas etárias

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Cálculo do tamanho da amostra considerando diferentes níveis de confiança e parâmetros estatísticos definidos

Tabela 2. Características Demográficas, Laboratoriais e Clínicas dos Participantes, Categorizados Segundo Diagnóstico Prospectivo de COVID-19

Tabela 3. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de Acordo com o Diagnóstico Prospectivo de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento

Tabela 4. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de Acordo com o Tempo Decorrido até o Diagnóstico de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento

Tabela 5. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de Acordo com o Desfecho Clínico após Diagnóstico Prospectivo de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento

Tabela 6. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de Acordo com o Diagnóstico de COVID-19 em Diferentes Faixas Etárias ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ang II – Angiotensina II

AT1R – Angiotensin II Type 1 Receptor

AUC – Área sob a curva (*Area Under the Curve*)

CCL11 – Quimiocina CC ligante 11 (*eotaxina*)

CCL2 – Quimiocina CC ligante 2 (*MCP-1*)

CCL3 – Quimiocina CC ligante 3 (*MIP-1 α*)

CCL4 – Quimiocina CC ligante 4 (*MIP-1 β*)

CCL5 – Quimiocina CC ligante 5 (*RANTES*)

CDC – Centros de Controle e Prevenção de Doenças dos Estados Unidos (*Centers for Disease Control and Prevention*)

CONEP – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

COVID-19 – Doença causada pelo Coronavírus de 2019 (*Coronavirus Disease 2019*)

CXCL10 – Quimiocina CXC ligante 10 (*IP-10*)

CXCL8 – Quimiocina CXC ligante 8 (também conhecida como IL-8)

DIVEP/SVS/SESDF/GDF – Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Vigilância em Saúde da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal, Governo do Distrito Federal

ELISA IgM/IgG – Ensaio imunoenzimático para detecção de anticorpos IgM e IgG (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

FGF-básico – Fator de crescimento de fibroblastos básico

Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz

G-CSF – Fator estimulador de colônias de granulócitos

GM-CSF – Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos

HUB – Hospital Universitário de Brasília

IFN- γ – Interferon gama

IL-1 β – Interleucina 1 beta

IL-1Ra – Antagonista do receptor da interleucina 1

IL-2 – Interleucina 2

IL-4 – Interleucina 4

IL-5 – Interleucina 5

IL-6 – Interleucina 6

IL-7 – Interleucina 7

IL-9 – Interleucina 9

IL-10 – Interleucina 10

IL-12 – Interleucina 12

IL-13 – Interleucina 13

IL-15 – Interleucina 15

IL-17 – Interleucina 17

LOOCV – Validação cruzada do tipo “deixa-um-de-fora” (*Leave-One-Out Cross-Validation*)

LR – Razão de verossimilhança (*Likelihood Ratio*)

MERS-CoV – Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus*)

NASEM – Academias Nacionais de Ciências, Engenharia e Medicina dos EUA (*National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine*)

NIH – Institutos Nacionais de Saúde dos Estados Unidos (*National Institutes of Health*)

OMS – Organização Mundial da Saúde

PDGF – Fator de crescimento derivado de plaquetas

RT-qPCR – Reação em Cadeia da Polimerase com Transcrição Reversa em Tempo Real (*Reverse Transcription quantitative Polymerase Chain Reaction*)

SARS-CoV – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus*)

SARS-CoV-2 – Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave tipo 2 (*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*)

NRP1 – Neuropilina-1

SDRA – síndrome respiratória aguda grave

Se – Sensibilidade

SIM – Sistema de Informação sobre Mortalidade

Sp – Especificidade

SRA – Sistema Renina-Angiotensina

TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TNF- α – Fator de necrose tumoral alfa

UnB – Universidade de Brasília

USOST – Unidade de Saúde Ocupacional e Segurança do Trabalho

VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular

LISTA DE SÍMBOLOS

α – Alfa

β – Beta

γ – Gama

\geq – Maior ou igual a

\leq – Menor ou igual a

p – Valor de probabilidade (nível de significância estatística; indica a chance de um resultado ocorrer ao acaso)

$p < 0,05$ – Resultado estatisticamente significativo ao nível de 5% (rejeita-se a hipótese nula com 95% de confiança)

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	15
REPERCUSSÕES DA PANDEMIA.....	15
ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA COVID-19	16
EVOLUÇÃO DAS VARIANTES	19
ASPECTOS CLÍNICOS DA COVID-19	20
FASES DA DOENÇA	21
CLASSIFICAÇÃO DA GRAVIDADE.....	22
INFLUÊNCIA DA IDADE	23
PERFIL IMUNOLÓGICO E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS	24
Quimiocinas	25
Citocinas pró-inflamatórias	26
Citocinas reguladoras	28
Fatores de crescimento	29
FUNDAMENTAÇÃO FINAL	31
LACUNAS DO CONHECIMENTO.....	32
JUSTIFICATIVA	33
OBJETIVOS	35
Objetivo PRIMÁRIO	35
Objetivos secundários	35
MÉTODOS	36
DESENHO DO ESTUDO	36
POPULAÇÃO DO ESTUDO	36
CONSIDERAÇÕES ÉTICAS	37
CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL	37
RECRUTAMENTO.....	39
Critérios de inclusão:.....	39
Critérios de exclusão:	39
TOTAL DE PARTICIPANTES	40
COLETA DE DADOS.....	40
DIAGNÓSTICO DE COVID-19 E CLASSIFICAÇÃO DOS PARTICIPANTES	41
SUBAGRUPAMENTO DOS PARTICIPANTES	41
AMOSTRAS.....	43
Coleta das amostras	43

Manipulação e armazenamento	44
QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES IMUNOLÓGICOS SOLÚVEIS	44
ANÁLISE ESTATÍSTICA	45
RESULTADOS	50
DESCRIÇÃO DOS PARTICIPANTES	50
ANÁLISE DOS BIOMARCADORES	53
Perfil panorâmico de mediadores imunológicos solúveis associados ao diagnóstico prospectivo de COVID-19	53
Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19	54
Magnitude e a significância do fold change dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19 e o tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19.....	56
Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19	57
Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo desfechos clínicos no subgrupo com diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19.	59
Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos	61
Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação do diagnóstico prospectivo de COVID-19 e desfechos clínicos.....	67
Análise multivariada dos principais mediadores imunológicos solúveis preditivos da infecção prospectiva por COVID-19 e dos desfechos clínicos	69
Algoritmo de árvore de decisão dos mediadores imunológicos solúveis para classificar o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos	70
Perfis de mediadores imunológicos relacionados à idade preditivos do diagnóstico prospectivo de COVID-19	73
DISCUSSÃO	76
DESCRIÇÃO DOS PARTICIPANTES	76
ANÁLISE DOS BIOMARCADORES	78
Perfil panorâmico de mediadores imunológicos solúveis associados ao diagnóstico prospectivo de COVID-19	78
Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19	79
Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos	80
Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação do diagnóstico prospectivo de COVID-19 e desfechos clínicos.....	81
Análise multivariada de mediadores imunológicos solúveis preditivos da infecção prospectiva por COVID-19 e seus desfechos clínicos	83

Algoritmo de árvore de decisão de mediadores imunológicos solúveis para classificar o diagnóstico prospectivo de COVID-19	84
Algoritmo de árvore de decisão de mediadores imunológicos solúveis para classificar desfechos clínicos.....	85
Perfis de mediadores imunológicos relacionados à idade preditivos do diagnóstico prospectivo de COVID-19	90
Contribuições Inovadoras e Potenciais Aplicações.....	91
Limitações	92
Sugestões para Pesquisas Futuras	93
CONCLUSÃO.....	95
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	98

INTRODUÇÃO

A pandemia de Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), causada pelo Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), foi declarada oficialmente em 11 de março de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), após sua origem na cidade de Wuhan, China, em dezembro de 2019 (RIOU; ALTHAUS, 2020). Este evento deu início a uma crise sanitária sem precedentes, com impacto devastador em diversas frentes, incluindo sistemas de saúde e economias globais. Hospitais, como centros de atendimento a pacientes críticos, tornaram-se o epicentro da crise, enfrentando sobrecarga e escassez de recursos essenciais. Diante do aumento das taxas de infecção e mortalidade, emergiu a necessidade de identificar formas de diagnóstico precoce e predição dos desfechos da doença (OMS, 2020).

O SARS-CoV-2 pertence à linhagem B (ZHU et al., 2020; TABIBZADEH et al., 2021) do gênero *Betacoronavirus* (YIN; WUNDERINK, 2018) e apresenta estrutura esférica com projeções em forma de espícula (proteína S), característica morfológica que remete ao nome “coronavírus” (TABIBZADEH et al., 2021). Sua classificação taxonômica, que o posiciona no subgênero *Sarbecovirus*, foi oficializada pelo International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV, 2024).

O vírus apresenta uma disseminação significativamente mais rápida em comparação aos seus predecessores, o Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) e Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV). A transmissão ocorre principalmente por gotículas respiratórias e aerossóis em interações próximas, mas também é possível por superfícies contaminadas (KARIA et al., 2020; LEUNG, 2021; RAHMAN et al., 2020).

Idosos, pessoas com comorbidades e profissionais de saúde estão entre os grupos mais suscetíveis à infecção. De acordo com National Institutes of Health (2024), embora todas as faixas etárias sejam suscetíveis à infecção, idosos acima de 60 anos, pessoas institucionalizadas em casas de repouso e indivíduos com condições crônicas apresentam maior risco de evolução para formas graves. Medidas como distanciamento social e autoisolamento foram fundamentais para reduzir a transmissão (TESLYA et al., 2020).

Em meados de 2020, o Brasil enfrentava um cenário crítico. O Hospital Universitário de Brasília, referência regional, lidava com alta demanda assistencial e

a necessidade de conter a transmissão intrainstitucional para proteger sua equipe e manter a força de trabalho. Nesse contexto, foi implementada uma estratégia de triagem que possibilitou a coleta e o armazenamento de 1.282 amostras de soro, que constituem a base deste estudo. As amostras foram colhidas antes da vacinação contra COVID-19, quando muitos profissionais ainda não haviam sido infectados. À época, a maior parte da literatura avaliava biomarcadores apenas após a infecção. Este trabalho, em contraste, investigou os mediadores imunológicos antes da infecção, acompanhando prospectivamente a evolução clínica dos participantes. A questão norteadora foi: biomarcadores previamente associados a desfechos adversos já estariam alterados no período pré-infecção? Essa oportunidade científica singular fundamentou a concepção do estudo.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

REPERCUSSÕES DA PANDEMIA

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classificou a COVID-19 como Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional entre 30 de janeiro de 2020 e 5 de maio de 2023 (OMS, 2020; 2023). Até julho de 2025, foram registrados aproximadamente 778 milhões de casos confirmados e mais de 7 milhões de óbitos atribuídos à doença (OMS, 2025). Antes do início da vacinação em larga escala, a taxa estimada de letalidade era de 7,13% (KAUR et al., 2021). Desde então, mais de 13 bilhões de doses de vacinas contra a COVID-19 foram administradas globalmente até julho de 2025 (OMS, 2025).

A pandemia de COVID-19 teve repercussões globais em múltiplos setores, tais como saúde, economia, meio ambiente e sociedade, revelando vulnerabilidades sistêmicas e exigindo respostas coordenadas. Além de sobrecarregar sistemas de saúde, provocou recessão econômica, mudanças nos padrões sociais e impactos ambientais heterogêneos (TORALES et al., 2020; SARKODIE & OWUSU, 2020; CHAKRABORTY & MAITY, 2020).

Foram sentidos efeitos graves na saúde mental e nos comportamentos sociais (TORALES et al., 2020). Surgiram recessão econômica e desafios ambientais como aumento de resíduos e mudanças na poluição (SARKODIE & OWUSU, 2020), além de intensificar migrações, alterar padrões sociais e afetar ecossistemas (CHAKRABORTY & MAITY, 2020).

A pandemia afetou drasticamente a educação e o mercado de trabalho em países em desenvolvimento, expondo desigualdades estruturais profundas. No setor educacional, o fechamento de escolas e a adoção do ensino remoto privilegiaram estudantes com acesso à internet, enquanto muitos ficaram excluídos do processo de aprendizagem (TADESSE; MULUYE, 2020). No mercado de trabalho, dados de 31 países mostram que 36 % das pessoas pararam de trabalhar e 65 % relataram queda de renda, aprofundando a pobreza em populações vulneráveis (BUNDERVOET; DÁVALOS; GARCIA, 2022). A resposta fragmentada das instituições agravou essas lacunas educacionais e sociais, acelerando transformações sociais indesejadas. Além

disso, a crise sanitária evidenciou a necessidade de políticas integradas e lideranças técnicas para enfrentar pandemias. Em países da América Latina, a reação foi dificultada por deficiências estruturais em vigilância epidemiológica, capacidade laboratorial e governança centralizada, limitando a efetividade das medidas (RAMÍREZ BERRÍO et al., 2024). Por sua vez, Paul et al. (2024) argumentam que respostas fragmentadas e sem pensamento sistêmico são inadequadas e defendem a adoção de abordagens de “pensamento complexo” para a pandemia.

ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS DA COVID-19

A fisiopatologia da COVID-19 tem início com a entrada do SARS-CoV-2 pelas vias aéreas superiores, especialmente pelo epitélio mucoso nasal. O vírus utiliza o maquinário celular do hospedeiro para se multiplicar, iniciando a fase de replicação viral. No entanto, na maioria dos casos, a infecção permanece assintomática ou leve, pois a imunidade inata é capaz de conter essa replicação inicial por meio de uma ativação controlada de citocinas.

A infecção viral se dá pela ligação da proteína S do SARS-CoV-2 ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), presente em diversos tecidos humanos. A protease transmembrana serina TMPRSS2 facilita a fusão da membrana viral com a célula hospedeira, permitindo a entrada do vírus e a disseminação intracelular (HOFFMANN et al., 2020). Outros receptores, como a neuropilina-1 (NRP1), também podem favorecer essa entrada, especialmente no tecido neural (WANG et al., 2022).

O SARS-CoV-2 utiliza como principal receptor celular a ACE2, mas diversos co-receptores têm sido identificados como facilitadores da entrada viral, o que ajuda a explicar seu amplo tropismo tecidual. Entre eles, destacam-se CD147, Neuropilina-1 (NRP1), DPP4 (CD26), AGTR2, Band3, KREMEN1, ASGR1, CLEC4G e LDLRAD3, além de integrinas e tetraspaninas (CD9 e CD81) (ALIPOOR & MIRSAEIDI, 2022; LIM, 2022; TRBOJEVIĆ-AKMAČIĆ; PETROVIĆ; LAUC, 2021). Cofatores como TMPRSS2, furina e catepsina L também são essenciais para o processamento da proteína spike e fusão membranar (JACKSON et al., 2021; SHULLA et al., 2010). A multiplicidade de

receptores e co-receptores utilizados pelo SARS-CoV-2 reforça a complexidade da infecção e aponta potenciais alvos para desenvolvimento de terapias antivirais futuras.

Quando o sistema imune inato funciona adequadamente, a ativação das células de defesa ocorre de forma equilibrada, com produção controlada de citocinas, recrutamento de linfócitos T CD8⁺ e geração de anticorpos neutralizantes. Esse controle evita a progressão da infecção para os pulmões e protege os tecidos de danos significativos (BLANCO-MELO et al., 2020; RASPUTNIAK et al., 2024; DONG et al., 2020).

Em uma parcela dos casos, a COVID-19 evolui para formas graves, quando a resposta imune inata não consegue conter a fase viral, desencadeando uma fase hiperinflamatória marcada por uma resposta patológica complexa, caracterizada por tempestade de citocinas, disfunção endotelial e estado de hipercoagulabilidade. Diversos sistemas podem ser comprometidos, sobretudo o trato respiratório inferior e o trato gastrointestinal, resultando em manifestações severas como síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), disfunção múltipla de órgãos, choque e até óbito (RASPUTNIAK et al., 2024; SOY et al., 2021; HU et al., 2020).

No pulmão, a infecção leva à morte dos pneumócitos tipo II, responsáveis pela produção do surfactante que mantém os alvéolos abertos e permite a troca gasosa. Além disso, ocorre acúmulo de células inflamatórias, extravasamento de proteínas plasmáticas e formação de membranas hialinas, culminando no dano alveolar difuso característico da SDRA. Esses eventos são agravados por inflamação endotelial e formação de microtrombos, o que intensifica a disfunção respiratória e sistêmica (HANLEY et al., 2020; CASTRO et al., 2021; NICHOLLS et al., 2003; FRANKS et al., 2003; XU et al., 2020).

A progressão para formas graves também está associada à liberação exagerada de citocinas inflamatórias como IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-33, IFN- α , IFN- γ , TNF- α e TGF- β , além de quimiocinas como CCL2, CCL3, CCL5, CXCL8, CXCL9 e CXCL10, que promovem o recrutamento de leucócitos e contribuem para a lesão tecidual (MORTAZ et al., 2020). Pacientes internados em unidades de terapia intensiva apresentam níveis elevados de mediadores como IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IP-10, MCP-1, MIP-1 α e TNF- α , reforçando o papel da hiperativação imune na gravidade da doença (HUANG et al., 2020).

Fatores como idade avançada, sexo masculino, obesidade e comorbidades crônicas (como doenças cardiovasculares, pulmonares e metabólicas) aumentam o risco de evolução para formas graves (BOOTH et al., 2020; BANSAL, 2020). Especificamente, o sexo masculino tem sido associado a maior gravidade e mortalidade, o que pode ser explicado por fatores imunológicos, hormonais e pela maior expressão da enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2), que serve como porta de entrada para o SARS-CoV-2 nas células hospedeiras (GARGAGLIONI; MARQUES, 2020). Nesse contexto, cresce o interesse por biomarcadores imunológicos que auxiliem na previsão do curso clínico e no manejo individualizado dos pacientes.

Além dos mecanismos de entrada viral, alterações sistêmicas no eixo renina-angiotensina contribuem para a gravidade dos desfechos. O sistema renina-angiotensina (SRA), tradicionalmente associado à regulação cardiovascular, desempenha papel central na patogênese da COVID-19. A ACE2 faz parte do eixo alternativo do SRA, convertendo angiotensina II (Ang II) em angiotensina-(1-7), uma molécula com efeitos anti-inflamatórios e vasodilatadores (ZEMPLIN & WIESE, 2020). A ligação do SARS-CoV-2 ao ACE2 reduz a expressão dessa enzima na membrana celular, promovendo desequilíbrio do SRA com acúmulo de Ang II e ativação do receptor AT1R, levando a inflamação, fibrose, vasoconstrição e trombose, eventos frequentemente observados em casos graves (VIEIRA et al., 2020).

Esse desequilíbrio é ainda mais acentuado em indivíduos com comorbidades, como hipertensão e diabetes, que já apresentam ativação basal do SRA. Em modelos experimentais com camundongos diabéticos, observou-se aumento da expressão de ACE2 e TMPRSS2 nos pulmões, o que pode em parte explicar a maior suscetibilidade relatada nesses pacientes (BATCHU et al., 2021). Além disso, polimorfismos genéticos, como o rs2285666 no gene ACE2, têm sido associados a risco aumentado de infecção e de evolução para formas graves da doença (HATEM & JABIR, 2024). O desbalanço do SRA também favorece a ativação exacerbada da resposta imune, culminando em tempestades de citocinas e disfunção endotelial, especialmente em indivíduos com fatores de risco pré-existent. Nesse contexto, compreender os mecanismos moleculares que envolvem o SRA e a ACE2 é essencial para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas mais eficazes e personalizadas no enfrentamento da COVID-19.

O sistema nervoso central (SNC) também pode ser diretamente afetado. A ACE2 é expressa em diversas regiões cerebrais, como córtex, bulbo olfatório, tronco encefálico e hipotálamo, em neurônios e células da glia (BOURGONJE et al., 2020). A entrada viral pode ocorrer por via hematogênica ou olfatória, comprometendo a barreira hematoencefálica (BHE). A ligação viral ao ACE2 nos endotélios cerebrais desencadeia morte celular e desorganização das junções oclusivas (*tight junctions*), facilitando a penetração de partículas virais e mediadores inflamatórios no parênquima cerebral (AL-OBAIDI; DESA, 2023). Isso contribui para uma resposta neuroinflamatória, associada a sintomas neurológicos variados, desde cefaleia até encefalopatia e acidente vascular cerebral (MALIHA; FATEMI; ARAF, 2024).

Concluindo, a fisiopatologia da COVID-19 envolve múltiplos mecanismos, desde a entrada viral mediada por ACE2 e TMPRSS2 até respostas imunes desreguladas que podem culminar em inflamação sistêmica, trombose e falência multiorgânica. A variabilidade clínica reflete o grau de ativação imunoinflamatória e a extensão da infecção extrapulmonar. Fatores como comorbidades, predisposição genética e desequilíbrio do sistema renina-angiotensina podem influenciar substancialmente a gravidade dos quadros. Compreender esses processos é essencial para o desenvolvimento de abordagens terapêuticas e prognósticas mais eficazes.

EVOLUÇÃO DAS VARIANTES

Desde o surgimento da COVID-19 em 2019, o SARS-CoV-2 acumulou mutações que deram origem a variantes de preocupação (VOCs), cada qual com propriedades distintas em termos de transmissibilidade, gravidade clínica e escape imune.

A Alpha (B.1.1.7) foi identificada em setembro de 2020, no Reino Unido, e associada a aumento da transmissibilidade e discreto incremento da gravidade clínica. Pouco depois, no final de 2020, surgiu na África do Sul a Beta (B.1.351), caracterizada por acentuada capacidade de escape imune, reduzindo a neutralização por anticorpos. Em outubro de 2020, foi detectada na Índia a Delta (B.1.617.2), que rapidamente se espalhou globalmente devido à elevada transmissibilidade,

associando-se também a maior risco de hospitalização e mortalidade. Em novembro de 2020, emergiu no Brasil a Gamma (P.1), com forte capacidade de escape imune, semelhante à Beta, comprometendo a eficácia da resposta protetora induzida por vacinas ou infecções prévias (MALIK, 2022).

Em uma fase mais tardia da pandemia, em novembro de 2021, foi descrita a Ômicron (B.1.1.529), inicialmente identificada na África do Sul e em Botsuana. Essa variante acumulou o maior número de mutações na proteína *spike* até então, conferindo-lhe alta transmissibilidade e escape parcial da imunidade adquirida. Apesar disso, evidências indicam associação a quadros menos graves, resultando em menor número de hospitalizações e óbitos, sobretudo em indivíduos previamente imunizados (AO et al., 2022). Essa menor gravidade clínica pode ser explicada, em parte, pela alteração na via de entrada celular: a Ômicron apresenta menor dependência da serina protease TMPRSS2, utilizando preferencialmente a via endossomal mediada por catepsinas. Como consequência, a infecção tende a permanecer restrita às vias aéreas superiores, reduzindo a invasão do parênquima pulmonar e, portanto, a gravidade dos desfechos clínicos (ZHAO et al., 2021).

As diferenças genômicas e de vias de entrada observadas entre as variantes repercutiram diretamente no espectro clínico descrito a seguir.

ASPECTOS CLÍNICOS DA COVID-19

O SARS-CoV-2 infecta predominantemente o trato respiratório inferior e o trato intestinal, podendo ocasionar quadros clínicos variáveis, que vão desde apresentações assintomáticas ou leves, como febre e tosse, até manifestações severas, como síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), disfunção orgânica múltipla, choque (especialmente choque séptico, distributivo e, em alguns casos, cardiogênico) e morte (HUANG et al., 2020). Estimativas iniciais sugeriram que cerca de 80% dos adultos apresentavam manifestações leves, enquanto aproximadamente 20% necessitavam hospitalização e até 25% dos casos graves podiam evoluir para óbito, sobretudo nos primeiros meses da pandemia, antes da vacinação ampla (BUSZKO et al., 2020; PARASHER, 2020).

Além disso, a infecção pelo SARS-CoV-2 pode acometer diversos sistemas do organismo, apresentando manifestações clínicas variadas, como sintomas gastrointestinais (diarreia, náusea), neurológicos (anosmia, cefaleia, acidente vascular cerebral), cardiovasculares (miocardite, trombose), renais e cutâneos (exantemas, urticária) (CHEUNG et al., 2020; MAO, L. et al., 2020; MAO, R. et al., 2020; GUPTA et al., 2020; RONCO; REIS; HUSAIN-SYED, 2020; FREEMAN et al., 2020). Esses sintomas decorrem, em grande parte, da resposta inflamatória sistêmica e da ampla expressão dos receptores ACE2 em tecidos distintos do corpo humano (MEHTA et al., 2021).

Diante desse espectro, descreve-se a seguir a progressão temporal típica da COVID-19, articulando a fase viral inicial e a fase hiperinflamatória.

FASES DA DOENÇA

A evolução clínica da COVID-19 é caracterizada por múltiplas fases fisiopatológicas interligadas que refletem a complexidade da resposta do hospedeiro ao SARS-CoV-2. Inicialmente, observa-se uma fase de replicação viral, geralmente associada a sintomas leves ou assintomáticos, como febre e tosse seca. Em cerca de 20% dos pacientes, instala-se uma fase hiperinflamatória, frequentemente evoluindo para SDRA e falência de múltiplos órgãos (SIDDIQI & MEHRA, 2020).

Complementando essa abordagem, Lin et al. (2021) propuseram um modelo de progressão clínica dividido em quatro estágios temporais para pacientes com quadros leves a moderados: (1) fase prodrômica, durante a primeira semana, com pneumonia leve e linfopenia; (2) fase de manifestações evidentes, na segunda semana, com pico inflamatório e início de disfunção orgânica; (3) fase de remissão, na terceira semana, com melhora progressiva; e (4) fase de convalescença, após três semanas, com estabilização clínica e laboratorial (LIN et al., 2021).

Outros estudos, como o de Abdimomunova e Zholdoshev (2023), também reconhecem um padrão trifásico semelhante: uma fase inicial leve (I), com sintomas inespecíficos; uma fase pulmonar (II), marcada por inflamação respiratória e hipoxemia; e uma fase hiperinflamatória (III), caracterizada por ativação imune exacerbada e comprometimento multissistêmico.

Alguns pacientes com COVID-19 apresentam sintomas persistentes por mais de quatro semanas após a fase aguda da infecção. Esse quadro foi inicialmente descrito por instituições como o Centers for Disease Control and Prevention (CDC) e o National Institutes of Health (NIH) como “COVID longa” ou PASC (Sequelas Pós-Agudas da Infecção por SARS-CoV-2), caracterizando a persistência de sintomas após quatro semanas da infecção inicial (CDC, 2023). Com o avanço das evidências, o conceito foi refinado por organizações como a Organização Mundial da Saúde (OMS) e a National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (NASEM), que atualmente definem a COVID longa como uma condição crônica, multissistêmica, de curso variável, com sintomas que surgem geralmente até três meses após a infecção aguda e persistem por pelo menos dois meses, sem explicação por outro diagnóstico (OMS, 2021; NASEM, 2024).

Assim, a COVID-19 deve ser compreendida como uma condição multifásica, dinâmica e sistêmica, cuja evolução se estende da fase aguda à convalescença e às síndromes prolongadas, exigindo monitoramento contínuo e intervenções terapêuticas personalizadas. Essa perspectiva reforça a necessidade de estratégias diagnósticas mais precisas, sustentadas por parâmetros imunológicos, capazes de orientar abordagens clínicas integradas e de aprimorar a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes.

CLASSIFICAÇÃO DA GRAVIDADE

A gravidade da COVID-19 é classificada por entidades como a OMS e o NIH em quatro categorias: leve, moderada, grave e crítica. Essa estratificação considera desde sintomas leves sem alterações radiológicas até hipoxemia grave, falência respiratória ou multiorgânica, demandando ventilação mecânica e internação em UTI (LUCIJANIĆ et al., 2023; TIRORE et al., 2024).

Segundo o NIH (2023) a classificação da gravidade dos casos de COVID-19 é estabelecida com base nos seguintes critérios:

- a) Infecção assintomática: ausência de sintomas clínicos sugestivos de COVID-19.

b) Doença leve: presença de sintomas inespecíficos, como febre, tosse ou dor de garganta, sem sinais de acometimento do trato respiratório inferior (ex.: dispneia ou alterações em exames de imagem).

c) Doença moderada: evidência clínica ou radiológica de infecção do trato respiratório inferior, com saturação de oxigênio $\geq 94\%$ em ar ambiente ao nível do mar.

d) Doença grave ou crítica: definida por saturação de oxigênio $< 94\%$ em ar ambiente, taquipneia, ou infiltrados pulmonares acometendo $\geq 50\%$ do parênquima pulmonar. Casos com insuficiência respiratória, choque séptico ou disfunção orgânica foram classificados como doença crítica.

Importa destacar que tais categorias de gravidade não se distribuem de forma uniforme: fatores etários e imunobiográficos modulam a intensidade e a duração das respostas.

INFLUÊNCIA DA IDADE

O envelhecimento representa um dos principais fatores de risco para complicações e mortalidade por COVID-19. Esse fenômeno está relacionado a dois processos centrais: a imunossenescência, que reduz a capacidade de resposta a novos antígenos; e o *inflammaging*, estado de inflamação crônica de baixo grau (BARTLESON et al., 2021; WITKOWSKI et al., 2022). Tais alterações comprometem a eficiência da resposta imune, inclusive em indivíduos jovens com histórico imunobiográfico mais "carregado", caracterizado por múltiplas exposições imunológicas ao longo da vida.

Estudos recentes destacam que a interação entre imunossenescência e *inflammaging* representa um eixo patológico central na gravidade da COVID-19, influenciando desde a resposta inflamatória exacerbada até a falha imunológica adaptativa em idosos e imunocomprometidos (ASGHARI et al., 2023).

Nesse contexto, o conceito de imunobiografia, definido como a trajetória única de estímulos imunológicos vivenciados por cada indivíduo ao longo da vida, oferece um arcabouço teórico crucial para explicar a heterogeneidade das respostas imunes, especialmente na velhice. Essa abordagem considera o acúmulo de exposições a

infecções, vacinação, dieta, microbiota, estresse e ambiente, como fatores que modelam profundamente o sistema imune individual (FRANCESCHI et al., 2017). Assim, a imunobiografia ajuda a entender por que pessoas da mesma idade cronológica podem responder de maneira distinta à COVID-19, influenciadas por um histórico imune acumulado ao longo da vida.

Nesse contexto, a idade biológica, modulada por fatores genéticos e epigenéticos, tem sido proposta como um marcador potencialmente mais preciso da vulnerabilidade imunológica do que a idade cronológica (WITKOWSKI et al., 2022). Fatores epigenéticos consistem em modificações químicas no DNA ou nas proteínas associadas que controlam a expressão gênica sem alterar a sequência do genoma, sendo influenciados por elementos como dieta, estresse, envelhecimento e exposições ambientais (JASIULIONIS, 2018). Apesar disso, observa-se um aumento exponencial da letalidade por COVID-19 a partir dos 50 anos, especialmente entre indivíduos com comorbidades pré-existentes, como doenças cardiovasculares, metabólicas ou pulmonares (PETRILLI et al., 2020; ZINATIZADEH et al., 2023).

Adicionalmente, o envelhecimento favorece o surgimento de doenças crônicas como hipertensão, diabetes tipo 2, doenças cardiovasculares e respiratórias, que estão associadas a desfechos clínicos piores na COVID-19 (MASON *et al.*, 2021). Evidências sugerem, ainda, que a infecção por SARS-CoV-2 pode acelerar a imunossenescência, agravando a disfunção imune preexistente (ZINATIZADEH *et al.*, 2023).

Esses aspectos reforçam a importância dos marcadores imunológicos como ferramentas clínicas na estratificação de risco e no monitoramento da gravidade da doença, especialmente em populações mais vulneráveis.

PERFIL IMUNOLÓGICO E MEDIADORES INFLAMATÓRIOS

É importante ressaltar que a resposta inflamatória à infecção pelo vírus pode variar significativamente entre os indivíduos, sendo modulada por fatores como exposição prévia ao vírus, cobertura vacinal e características genéticas. Essa variabilidade reforça a importância de se manter a vigilância sobre marcadores imunológicos em diferentes contextos populacionais, a fim de orientar estratégias mais eficazes de controle da doença (BEKLIZ et al., 2022).

Conforme definido pelo US National Institutes of Health (NIH), um biomarcador é uma característica mensurável que reflete processos biológicos fisiológicos, patológicos ou respostas a intervenções terapêuticas (BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP, 2001). No contexto da COVID-19, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento têm sido explorados em estudos como candidatos a biomarcadores para diagnóstico, prognóstico e monitoramento da resposta ao tratamento (SAMPRATHI & JAYASHREE, 2021).

A avaliação do perfil imunológico em pacientes com COVID-19 tem revelado padrões distintos de expressão de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento, que podem indicar risco de gravidade ou persistência dos sintomas. A seguir, são apresentados os principais biomarcadores imunológicos investigados em pacientes com COVID-19, os quais foram objeto de investigação no presente estudo.

Quimiocinas

As quimiocinas são pequenas proteínas sinalizadoras que controlam a migração e ativação de células do sistema imune. Elas desempenham papel central na inflamação e na resposta antiviral.

CXCL8 (IL-8): atrai neutrófilos ao local da infecção e é um potente mediador inflamatório (BAGGIOLINI & CLARK-LEWIS, 1992). Níveis elevados de CXCL8 foram observados em pacientes com COVID-19 grave e correlacionam-se com lesão pulmonar (LIU et al., 2020a).

CCL2 (MCP-1): recruta monócitos e está envolvida na inflamação tecidual (DESHMANE et al., 2009). Em COVID-19, sua expressão elevada está associada a infiltração monocitária e agravamento pulmonar (ZHOU et al., 2020).

CCL3 (MIP-1 α) e CCL4 (MIP-1 β): promovem a migração de células T e NK e participam da resposta antiviral (MAURER & VON STEBUT, 2004). Ambos foram detectados em níveis aumentados em pacientes com COVID-19 grave, indicando ativação imune exacerbada (HUANG et al., 2020).

CCL5 (RANTES): recruta linfócitos T, basófilos e eosinófilos, sendo importante em inflamações crônicas e respostas antivirais (APPAY & ROWLAND-JONES, 2001). Em COVID-19, níveis elevados de CCL5 têm sido associados a ativação imune

persistente e lesões pulmonares, além de terem sido observados em pacientes com COVID longa e fadiga pós-viral (BLANCO-MELO et al., 2020; PATTERSON et al., 2021).

CCL11 (eotaxina-1): quimiocina capaz de recrutar exclusivamente eosinófilos, desempenhando papel importante na inflamação alérgica e doenças respiratórias como asma (GARCIA-ZEPEDA et al., 1996). Alguns estudos observaram elevação de CCL11 em casos de COVID longa com sintomas persistentes neurológicos (PELUSO et al., 2021).

CXCL10 (IP-10): induzido por IFN- γ , atrai linfócitos T ativados e está associado a respostas Th1 (DUFOR et al., 2002). Foi consistentemente associado a piores desfechos em COVID-19, sendo investigado como potencial biomarcador prognóstico (YANG et al., 2020).

Essas quimiocinas atuam de forma sinérgica na regulação da resposta inflamatória, e seu perfil pode refletir diferentes estágios e severidade da infecção por SARS-CoV-2. A compreensão dessas alterações permite identificar não apenas marcadores de gravidade, mas também potenciais alvos terapêuticos, reforçando sua relevância na fisiopatologia e no manejo clínico da COVID-19.

Citocinas pró-inflamatórias

As citocinas pró-inflamatórias são mediadores essenciais na ativação da resposta imune inata e adaptativa, desempenhando papel central na defesa contra infecções, mas também podendo contribuir para dano tecidual quando desreguladas.

IL-1 β : produzida principalmente por monócitos e macrófagos, promove febre, inflamação e ativação de células endoteliais (SHALDON, 2011). Em COVID-19, está associada à gravidade da inflamação pulmonar e ao desenvolvimento de tempestade de citocinas (VAN DE VEERDONK et al., 2020).

IL-6: uma das principais citocinas envolvidas na resposta inflamatória sistêmica, regula a produção de proteínas de fase aguda (TANAKA et al., 2014). Níveis elevados de IL-6 são consistentemente encontrados em casos graves de COVID-19 e têm sido utilizados como biomarcadores prognósticos (DEL VALLE et al., 2020).

TNF- α : secretado por macrófagos, tem ação citotóxica e pró-coagulante, além de induzir apoptose e recrutamento celular (PARAMESWARAN & PATIAL, 2010). Sua presença aumentada está relacionada ao dano vascular e à disfunção endotelial observados em COVID-19 (MEHTA et al., 2020).

IL-12: promove a diferenciação de células T em linfócitos Th1 e estimula a produção de IFN- γ (TRINCHIERI, 2003). Alterações em seus níveis em COVID-19 podem comprometer a resposta antiviral eficiente, especialmente em casos moderados e graves (LUCAS et al., 2020).

IFN- γ : fundamental na resposta antiviral, ativa macrófagos e células NK (SCHRODER et al., 2004). Apesar de seu papel protetor, níveis excessivos podem contribuir para lesão tecidual em infecções graves por SARS-CoV-2 (ARUNACHALAM et al., 2020).

IL-15 promove a sobrevivência e proliferação de células NK e T CD8⁺ de memória (FEHNIGER; CALIGIURI, 2001) e atua como parte da resposta compensatória à linfopenia em pacientes com COVID-19. A citocina foi detectada em indivíduos sintomáticos, mas não em controles saudáveis ou casos assintomáticos. Níveis elevados de IL-15 se associaram negativamente aos níveis de células T, B e NK, sugerindo uma produção compensatória frente à depleção linfocitária (SINGH et al., 2022).

IL-17: produzida por linfócitos Th17, induz neutrofilia e produção de citocinas secundárias (KORN et al., 2009). Em COVID-19, sua elevação está associada à inflamação exacerbada e piora do quadro clínico, sendo alvo de investigações terapêuticas (WU & YANG, 2020).

A ativação intensa dessas citocinas pode desencadear uma resposta inflamatória sistêmica descontrolada, conhecida como tempestade de citocinas, que está associada a formas graves da COVID-19 e à disfunção de múltiplos órgãos. Compreender o papel individual e coletivo dessas citocinas é essencial para o desenvolvimento de intervenções que possam modular a inflamação sem comprometer a resposta antiviral.

Citocinas reguladoras

As citocinas reguladoras são fundamentais para a manutenção da homeostase imunológica, atuando na limitação da resposta inflamatória e na prevenção de danos teciduais excessivos.

IL-1Ra (antagonista do receptor de IL-1): inibe os efeitos pró-inflamatórios da IL-1 ao competir por seus receptores (AREND, 2002). Em pacientes com COVID-19, níveis elevados de IL-1Ra foram associados à tentativa do organismo de controlar a inflamação exacerbada (HAN *et al.*, 2020).

IL-4: estimula a diferenciação de linfócitos T em células Th2 e promove a produção de anticorpos por células B (PAUL, 1991). Sua elevação em COVID-19 pode indicar uma resposta imune compensatória para neutralizar a inflamação de padrão Th1 (LUCAS *et al.*, 2020).

IL-5: envolvida na ativação e sobrevivência de eosinófilos (TAKATSU *et al.*, 2008). Embora não esteja entre as principais citocinas da resposta antiviral, alguns estudos relataram alterações em seus níveis em pacientes com COVID-19, especialmente em casos com envolvimento pulmonar (ZHAO *et al.*, 2021).

IL-9: interleucina envolvida na proliferação de células T e B, além de participar na modulação de respostas inflamatórias e alérgicas. Estudos experimentais demonstram que a superexpressão de IL-9 está associada à inflamação das vias aéreas, hiperplasia de mastócitos e hiperresponsividade brônquica, evidenciando seu papel em processos imunológicos exacerbados (TEMANN *et al.*, 1998). Sua participação na COVID-19 ainda é pouco compreendida, mas alterações em seus níveis têm sido observadas em subgrupos específicos de pacientes (MATHEW *et al.*, 2020).

IL-10: uma das principais citocinas anti-inflamatórias, inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias e modula a atividade de células apresentadoras de antígenos (MOORE *et al.*, 2001). Em COVID-19, níveis elevados de IL-10 são frequentemente detectados, sugerindo um mecanismo regulador ativado em resposta à inflamação intensa (DEL VALLE *et al.*, 2020).

IL-13: associada à resposta Th2 e à regulação de processos inflamatórios em mucosas (BAMIAS, 2015). Estudos apontam que sua presença em COVID-19 pode

estar ligada a padrões distintos de resposta imune, principalmente em casos leves a moderados (LUCAS et al., 2020).

Essas citocinas reguladoras refletem mecanismos de contenção da inflamação, essenciais para equilibrar a resposta imune e evitar danos colaterais. Em COVID-19, seu perfil pode indicar tentativas do organismo de restaurar a homeostase frente à ativação inflamatória descontrolada observada em casos graves.

Fatores de crescimento

Os fatores de crescimento são proteínas que regulam processos como proliferação, diferenciação, migração e sobrevivência celular. Em infecções virais, como a COVID-19, esses mediadores podem ter funções ambíguas: contribuem para a regeneração tecidual, mas também podem participar da patogênese ao estimular inflamação e fibrose.

FGF-básico (FGF-2): promove proliferação e diferenciação celular, incluindo de células endoteliais e fibroblastos, sendo importante na angiogênese e cicatrização (ORNITZ & ITOH, 2015). Em COVID-19, níveis aumentados de FGF-2 foram associados a processos de reparo pulmonar e possíveis eventos de fibrose (LENG et al., 2020).

PDGF (Fator de crescimento derivado de plaquetas): estimula quimiotaxia e proliferação de fibroblastos e células musculares lisas, sendo crucial na resposta a lesões (HELDIN & WESTERMARK, 1999). Em pacientes com COVID-19, sua elevação pode indicar ativação endotelial e remodelamento vascular (ACKERMANN et al., 2020).

VEGF (Fator de crescimento endotelial vascular): promove a formação de novos vasos sanguíneos e aumenta a permeabilidade vascular (FERRARA, 2004). A expressão elevada de VEGF na COVID-19 foi associada à inflamação pulmonar, edema e lesão endotelial (JOSUTTIS et al., 2023).

G-CSF (Fator estimulador de colônias de granulócitos): estimula a produção e ativação de neutrófilos (DEMETRI & GRIFFIN, 1991). Níveis elevados de G-CSF foram encontrados em pacientes com COVID-19 grave e associados à inflamação sistêmica exacerbada (HUANG et al., 2020).

GM-CSF (fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos) é uma citocina pleiotrópica que influencia a produção, maturação, função e sobrevivência de diversas células do sistema imune, desempenhando papel fundamental na manutenção da homeostase e na resposta inata contra infecções (XU et al., 2014). Em COVID-19, sua elevação está ligada à ativação de macrófagos e à tempestade de citocinas, sendo alvo de terapias imunomoduladoras (LANG et al., 2020).

IL-2: além de seu papel como citocina, atua como fator de crescimento para linfócitos T, promovendo sua expansão e sobrevivência (BOYMAN & SPRENT, 2012). Em COVID-19, níveis variáveis de IL-2 foram observados, podendo refletir a intensidade da resposta imune (ZHOU et al., 2020).

IL-7: essencial para a sobrevivência de células T naíve e de memória, sendo crítico na homeostase do sistema imune (MAZZUCCHELLI & DURUM, 2007). Sua redução em COVID-19 pode estar relacionada à linfopenia e à exaustão imunológica (CHEN et al., 2020).

A análise integrada desses fatores permite avaliar tanto a resposta imune inflamatória quanto os processos de regeneração e dano tecidual, sendo fundamentais para a compreensão da fisiopatologia da COVID-19 e para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas direcionadas.

FUNDAMENTAÇÃO FINAL

A resposta imune à infecção por SARS-CoV-2 envolve um intrincado conjunto de mediadores inflamatórios, cujos níveis e padrões de expressão podem influenciar decisivamente a evolução clínica da COVID-19. A análise integrada de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento permite compreender não apenas os mecanismos de defesa antiviral, mas também os processos que levam à inflamação exacerbada, ao dano tecidual e à persistência de sintomas.

As evidências disponíveis demonstram que a monitorização de biomarcadores representa uma ferramenta promissora para a estratificação de risco, o acompanhamento clínico e a definição de estratégias terapêuticas personalizadas. Além disso, a identificação de perfis inflamatórios possivelmente associados à COVID longa abre novas perspectivas para o manejo de pacientes com sintomas persistentes, reforçando a relevância clínica de abordagens individualizadas.

Nesse cenário de contínua evolução viral e desafios epidemiológicos, a caracterização de mediadores imunológicos basais permanece uma prioridade científica e clínica, com potencial para aprimorar tanto as políticas de saúde pública quanto a prática da medicina de precisão. Partimos, assim, da hipótese de que perfis imunológicos séricos pré-infecção podem contribuir para a predição prospectiva da ocorrência de COVID-19 e de seus desfechos clínicos, configurando assinaturas com valor para a estratificação de risco e a intervenção precoce.

LACUNAS DO CONHECIMENTO

A COVID-19 apresenta evolução clínica altamente imprevisível, variando de formas assintomáticas a quadros graves. Esse espectro evidencia uma lacuna crítica: a ausência de biomarcadores imunológicos validados capazes de antecipar desfechos clínicos em indivíduos previamente saudáveis. Apesar dos avanços no entendimento dos mecanismos imunopatológicos, a literatura ainda carece de estudos sistemáticos que investiguem biomarcadores imunológicos basais (pré-infecção) com valor preditivo confiável tanto para o risco de infecção quanto para a evolução clínica desfavorável em infecções virais, incluindo a COVID-19. Essa limitação compromete a aplicação clínica desses biomarcadores, sobretudo na estratificação de risco, na detecção precoce e no manejo individualizado dos pacientes.

JUSTIFICATIVA

A variabilidade clínica observada na COVID-19, que vai desde infecções assintomáticas até quadros graves e fatais, sugere que fatores individuais pré-existentes podem influenciar de forma decisiva a suscetibilidade à infecção e os desfechos clínicos. Evidências derivadas de estudos com HIV e HCV reforçam essa hipótese ao demonstrarem que biomarcadores imunológicos basais, mensuráveis antes da infecção, estão associados à resistência natural ao vírus.

No caso da hepatite C, indivíduos expostos ao vírus, mas não infectados, apresentaram níveis significativamente mais elevados de citocinas inflamatórias como IL-6, IL-8 e TNF- α , indicando uma ativação inata protetora anterior à exposição viral (WARSHOW et al., 2012). Polimorfismos genéticos em genes imunorreguladores, como IL-12B, também foram associados à resistência ao HCV em indivíduos altamente expostos (HEGAZY et al., 2008). Em relação ao HIV, biomarcadores como IL-22 e a expressão basal de genes antivirais (MX2, APOBEC3G, TRIM22) foram observados em indivíduos expostos não infectados, sugerindo que certos perfis imunes inatos e metabólicos podem conferir proteção mesmo em ambientes de alto risco (MISSÉ et al., 2007; AGUILAR-JIMÉNEZ et al., 2017).

Esses achados sugerem que a imunidade basal, anterior à infecção, pode ser um determinante importante da resistência viral, o que sustenta a plausibilidade científica de investigar biomarcadores imunológicos pré-infecção como preditores de suscetibilidade e prognóstico também na COVID-19. Tal abordagem pode contribuir para a estratificação de risco populacional, para a vigilância epidemiológica e para o desenho de estratégias de intervenção precoce mais eficazes.

A tempestade de citocinas, reconhecida como mecanismo central nos quadros severos, evidencia que os mediadores imunológicos refletem em tempo real o estado inflamatório e imunológico do organismo. Nesse contexto, citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento despontam como candidatos a biomarcadores para diagnóstico, prognóstico e monitoramento terapêutico (SAMPRATHI; JAYASHREE, 2021). Sua aplicação clínica pode viabilizar a estratificação de risco, orientar intervenções precoces e possibilitar o manejo personalizado dos pacientes. Além disso, a identificação e validação desses biomarcadores oferecem avanços científicos relevantes, ao aprofundar a compreensão da fisiopatologia da doença e

abrir caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas. Os imunomediadores analisados neste estudo são reconhecidos como elementos fundamentais na orquestração da resposta imune e, quando avaliados em contextos clínicos e epidemiológicos, podem atuar como biomarcadores imunológicos, fornecendo subsídios tanto para a estratificação de risco quanto para a elucidação dos mecanismos fisiopatológicos subjacentes.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRIMÁRIO

O objetivo primário foi caracterizar o perfil basal de mediadores imunológicos séricos (quimiocinas, citocinas inflamatórias e reguladoras e fatores de crescimento) de funcionários do Hospital Universitário de Brasília (HUB) que tiveram sangue coletado antes de contrair COVID-19 ou de serem vacinados, para investigar sua associação com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 ao longo do acompanhamento por 19 meses.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Os objetivos secundários foram fornecer evidências complementares sobre as associações entre os níveis basais dos mediadores imunológicos séricos analisados com:

- i) o intervalo de tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19;
- ii) os desfechos clínicos da infecção, incluindo presença, gravidade e duração dos sintomas;
- iii) as faixas etárias dos participantes, visando identificar possíveis variações imunológicas relacionadas à idade e sua relação com o diagnóstico prospectivo de COVID-19.

MÉTODOS

DESENHO DO ESTUDO

Este estudo foi delineado como uma coorte observacional prospectiva, com duração total de 19 meses de acompanhamento. A coleta de sangue foi realizada exclusivamente no momento basal, permitindo a análise das concentrações séricas iniciais de biomarcadores imunológicos como potenciais preditores dos desfechos clínicos observados ao longo do seguimento.

A investigação foi conduzida entre julho de 2020 e fevereiro de 2022, envolvendo funcionários de um hospital universitário localizado no Distrito Federal, Brasil. Além das amostras biológicas, foram obtidos dados clínicos, antropométricos e laboratoriais.

O protocolo contemplou a avaliação de múltiplos desfechos. O desfecho primário foi a ocorrência de diagnóstico de COVID-19 durante o período de acompanhamento. Como desfechos secundários, foram considerados: (i) o intervalo entre a coleta basal e o diagnóstico confirmado de COVID-19; (ii) a presença de sintomas; (iii) a gravidade clínica; (iv) a duração do quadro; e (v) a influência da idade sobre as associações entre mediadores imunológicos basais e o diagnóstico subsequente de COVID-19.

POPULAÇÃO DO ESTUDO

Em junho de 2020, o Hospital Universitário de Brasília (HUB/UnB) instituiu uma força-tarefa destinada ao rastreamento sorológico da infecção por SARS-CoV-2, com o objetivo de ampliar as estratégias de proteção de seu quadro funcional. Para isso, realizou-se a coleta de sangue de todos os colaboradores, incluindo profissionais da assistência, funcionários administrativos, de apoio e terceirizados, independentemente do vínculo empregatício ou do regime de trabalho.

A testagem foi voluntária e disponibilizada a todas as áreas do hospital. No total, foram coletadas 1.282 amostras de sangue, que permaneceram inicialmente armazenadas no Laboratório de Análises Clínicas do HUB. Posteriormente, foi

elaborado um relatório com os resultados sorológicos, permitindo identificar os funcionários infectados no momento da coleta. A partir dessas informações, foram definidos os critérios de elegibilidade e selecionados os participantes convidados para integrar o presente estudo.

CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

Este estudo seguiu rigorosamente os princípios éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque para pesquisas envolvendo seres humanos. Conduzido entre julho de 2020 e fevereiro de 2022, em Brasília (Distrito Federal, Brasil), o estudo integra o projeto TARGET, registrado na Plataforma Brasileira de Registros de Ensaio Clínicos (ReBEC, [access #RBR-62zdkk](#)) e aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP) sob o parecer consubstanciado CAAE 30846920.7.0000.0008.

Com o objetivo de permitir o uso das amostras previamente coletadas, foi submetida e aprovada, em julho de 2021, uma emenda ao projeto original. A coleta de dados clínicos e a realização das análises laboratoriais ocorreram exclusivamente após a autorização expressa dos participantes, formalizada por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), em versão física ou digital.

Entretanto, em razão das dificuldades logísticas impostas pelo distanciamento social durante a pandemia, foi solicitada uma nova emenda à CONEP, requerendo a dispensa da assinatura do TCLE. Tal solicitação foi aprovada, permitindo a continuidade ética do estudo conforme as normativas vigentes.

CÁLCULO DO TAMANHO AMOSTRAL

Do total de 1.282 indivíduos com amostras de soro disponíveis no início do estudo, estimou-se, com base em dados preliminares de acompanhamento, que aproximadamente 30% desenvolveriam infecção por COVID-19 ao longo do período de seguimento clínico. Com essa expectativa, calculou-se que uma amostra mínima de 258 participantes seria suficiente para estimar, com precisão estatística adequada, a proporção de infecção na população-alvo e assegurar poder estatístico para a

comparação entre indivíduos que desenvolveriam infecção por COVID-19 (COVID-19 [+]) e aqueles que permaneceriam não infectados (COVID-19 [-]), considerado o desfecho primário do estudo (FIGURA 1).

O cálculo amostral foi realizado com base em uma comparação binária de proporções entre indivíduos que desenvolveriam infecção por COVID-19 durante o acompanhamento (COVID-19 [+]) e aqueles que permaneceriam não infectados (COVID-19 [-]). Para essa estimativa, foram adotados um nível de confiança de 95% ($\alpha = 0,05$), efeito de desenho igual a 1 e poder estatístico de 80% ($1 - \beta = 0,80$).

As análises adicionais conduzidas no subgrupo COVID-19 (+), incluindo tempo até o diagnóstico, desfechos clínicos e estratificações etárias, tiveram caráter exploratório e não interferiram no cálculo amostral inicial.

Os cálculos foram realizados utilizando a plataforma OpenEpi (The OpenEpi Project, Atlanta, EUA), módulo de “frequência em população”, empregado de forma adaptada ao delineamento de coorte observacional, no qual a proporção esperada de eventos (30% de infecção) serviu como parâmetro para o dimensionamento da amostra.

Tamanho da amostra para a frequência em uma população

Tamanho da população (para o fator de correção da população finita ou fcp)(N): 1282
 frequência % hipotética do fator do resultado na população (p): 30% +/-5
 Limites de confiança como % de 100(absoluto +/- %)(d): 5%
 Efeito de desenho (para inquéritos em grupo-EDFF): 1

Tamanho da Amostra(n) para vários Níveis de Confiança

IntervaloConfiança (%)	Tamanho da amostra
95%	258
80%	125
90%	194
97%	303
99%	389
99.9%	533
99.99%	639

Equação

$$\text{Tamanho da amostra } n = [EDFF * Np(1-p)] / [(d^2/Z^2_{1-\alpha/2} * (N-1) + p * (1-p))]$$

Resultados do OpenEpi, Versão 3, calculadora de código aberto--SSPropor

Tabela 1. Cálculo do tamanho da amostra considerando diferentes níveis de confiança e parâmetros estatísticos definidos.

Fonte: OpenEpi, Versão 3.

RECRUTAMENTO

O processo de recrutamento foi conduzido a partir da identificação, entre os 1282 funcionários testados na triagem institucional de 2020, daqueles que apresentavam resultado negativo para infecção ativa por SARS-CoV-2 naquele momento. Esses indivíduos foram considerados potencialmente elegíveis e convidados a participar do estudo por meio de abordagens presenciais, contatos telefônicos, envio de e-mails institucionais e divulgação pela intranet do hospital.

Critérios de inclusão:

Funcionários com resultado negativo na triagem inicial e que aceitaram participar do estudo mediante consentimento.

Critérios de exclusão:

- a) Diagnóstico confirmado de COVID-19 anterior à coleta de sangue realizada na triagem;
- b) Recusa em participar do estudo;
- c) Perda de contato ou ausência de resposta às tentativas de recrutamento.

Com base na aprovação ética concedida pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), foi também solicitada ao Núcleo de Pesquisa Clínica do HUB a lista de funcionários com diagnóstico laboratorial confirmado de COVID-19, registrado entre junho de 2020 e janeiro de 2022, independentemente da função exercida na instituição. O objetivo dessa solicitação foi permitir a identificação ativa de indivíduos que tivessem realizado teste diagnóstico por RT-PCR e que já possuíam amostras de sangue armazenadas desde a triagem. A lista incluía a data exata do exame diagnóstico, o que possibilitou a validação do desfecho clínico e a correta classificação temporal dos casos nas análises posteriores.

Após verificação dos critérios de elegibilidade, esses funcionários foram contatados por meio de diferentes estratégias de comunicação e convidados a participar do estudo. Aqueles que aceitaram foram incluídos conforme as condições aprovadas pela CONEP, incluindo, quando aplicável, a dispensa da assinatura do

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE), devido às restrições impostas pelo contexto pandêmico.

Apesar dos esforços empreendidos, o processo de recrutamento enfrentou dificuldades operacionais, como ausência de dados de contato atualizados, falta de resposta às tentativas de comunicação e recusas por motivos diversos, como sobrecarga em razão da pandemia, cansaço frente à recorrência de convites para participação em estudos e receio de fraudes.

TOTAL DE PARTICIPANTES

Do total de 1282 funcionários que participaram da triagem sorológica institucional, 455 aceitaram participar da pesquisa. Após a verificação dos critérios de elegibilidade e exclusão, 56 indivíduos foram excluídos por já apresentarem diagnóstico confirmado de COVID-19 antes da coleta da amostra de sangue, e 13 foram excluídos por perda de seguimento, totalizando 69 exclusões.

Dessa forma, a amostra final elegível para as análises foi composta por 386 participantes, todos com amostras de soro armazenadas antes da ocorrência do desfecho principal e com dados clínicos e laboratoriais disponíveis.

COLETA DE DADOS

As informações clínicas, antropométricas e laborais dos participantes foram coletadas em uma única oportunidade, por meio de formulários físicos ou eletrônicos, preenchidos durante entrevistas presenciais, por telefone ou via e-mail. Em relação à COVID-19, foram registrados apenas os dados clínicos referentes à primeira infecção confirmada por SARS-CoV-2, mesmo nos casos em que o participante tenha relatado episódios subsequentes. Os dados foram organizados em planilhas eletrônicas (Microsoft Excel 360) e consolidados para posterior análise estatística.

Adicionalmente, foram solicitadas à Unidade de Saúde Ocupacional e Segurança do Trabalho (USOST) do HUB informações complementares para avaliação do risco biológico, com base na lotação e função dos funcionários. Para

esse fim, foi disponibilizado o Programa de Prevenção de Riscos Ambientais (PPRA), emitido em 1º de dezembro de 2021.

Em agosto de 2023, após o encerramento do período de coleta de dados clínicos, foi conduzida uma busca ativa para identificação de possíveis óbitos por COVID-19 entre os participantes do estudo. Para essa finalidade, foram solicitadas informações à Gerência de Informação e Análise de Situação em Saúde (GIASS), vinculada à Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Saúde do Distrito Federal (DIVEP/SVS/SESDF/GDF), com consulta aos bancos oficiais PAINEL COVID e Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Nenhum registro de óbito relacionado à COVID-19 foi identificado entre os participantes incluídos na amostra analisada.

DIAGNÓSTICO DE COVID-19 E CLASSIFICAÇÃO DOS PARTICIPANTES

O diagnóstico prospectivo de infecção por SARS-CoV-2 foi realizado de forma não sistemática, conforme a necessidade clínica dos participantes durante o período observado, utilizando os métodos laboratoriais disponíveis no sistema de saúde, incluindo RT-qPCR, testes de antígeno e sorologia (ELISA IgM/IgG).

Com base na ocorrência de infecção ao longo do período estudado, os participantes foram classificados em dois subgrupos principais:

- a) COVID-19 negativos [COVID-19 (-)]: indivíduos que permaneceram assintomáticos e sem diagnóstico confirmado durante todo o período analisado;
- b) COVID-19 positivos [COVID-19 (+)]: indivíduos que apresentaram resultado laboratorial positivo para SARS-CoV-2 em qualquer momento ao longo do período de observação.

SUBAGRUPAMENTO DOS PARTICIPANTES

Após a classificação principal em COVID-19 negativos [COVID-19 (-)] e COVID-19 positivos [COVID-19 (+)], os participantes do grupo COVID-19 (+) foram

posteriormente estratificados em subgrupos segundo três critérios: tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19, desfecho clínico da infecção e faixa etária dos participantes.

A) Tempo decorrido até o diagnóstico de COVID-19

A estratificação temporal foi definida com base nos tercís da distribuição do tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico prospectivo de COVID-19, ao longo dos 19 meses de seguimento. Essa abordagem garantiu proporcionalidade entre os subgrupos e permitiu comparações estatísticas mais robustas. Embora os intervalos coincidam parcialmente com marcos epidemiológicos nacionais, como a emergência de variantes (Gama, Delta, Ômicron) e a introdução das vacinas, os cortes utilizados refletem exclusivamente a distribuição empírica dos dados, sem correspondência direta com critérios de vigilância genômica.

- Inferior a 4 meses após a coleta basal;
- Entre 4 e 16 meses;
- Superior a 16 meses.

B) Desfecho clínico da infecção

A classificação clínica foi subdividida em três eixos: presença de sintomas, gravidade da doença e duração dos sintomas.

a) Presença de sintomas:

- i) Assintomáticos;
- ii) Sintomáticos.

b) Gravidade da doença:

Considerando o pequeno número de participantes assintomáticos e graves, além da ausência de óbitos na amostra, optou-se por uma simplificação analítica baseada nos critérios do NIH (2025). Assim, os casos foram agrupados em dois níveis de gravidade:

- i) Leve: casos assintomáticos ou com sintomas leves

ii) Grave: casos com sintomas moderados ou graves

c) Duração dos sintomas:

A definição de COVID-19 com sintomas persistentes adotada neste estudo foi baseada nos critérios do CDC (2021), que considera a manutenção de sintomas além de quatro semanas após o início da fase aguda da doença. Optou-se por essa definição devido à sua simplicidade, uma vez que o estudo não incluiu acompanhamento longitudinal detalhado ou exames complementares que possibilitassem a aplicação dos critérios da OMS ou NASEM (2022) para definição de COVID longa.

i) Inferior a 4 semanas;

ii) Persistência por 4 semanas ou mais.

C) Faixa etária no momento da coleta:

Essas estratificações foram utilizadas para análises exploratórias, de acordo com os tercís para garantir proporcionalidade nas comparações, com o objetivo identificar possíveis variações imunológicas relacionadas à idade e sua relação com o diagnóstico prospectivo de COVID-19.

a) 23 a 35 anos;

b) 36 a 45 anos;

c) 46 anos ou mais.

AMOSTRAS

Coleta das amostras

Amostras de sangue total (10 mL) foram coletadas por punção venosa única de cada participante, durante a triagem hospitalar previamente descrita, utilizando tubos a vácuo sem anticoagulante (tubos secos com gel separador). As amostras foram processadas em até duas horas após a coleta, sendo submetidas à centrifugação a $447,2 \times g$ por 5 minutos, em temperatura ambiente, para separação do soro, com o objetivo de preservar a integridade dos componentes bioquímicos. Em seguida, foram

armazenadas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário de Brasília (HUB). Após a aprovação da emenda nº 5 do projeto TARGET pela CONEP, as amostras foram transferidas para o Laboratório de Dermatologicologia da Universidade de Brasília (UnB), onde foram organizadas de acordo com o código padronizado do estudo.

Manipulação e armazenamento

O soro previamente separado foi acondicionado em alíquotas de 1 mL e armazenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até a realização das análises dos mediadores imunológicos solúveis. Após a conclusão da coleta de dados clínicos dos participantes, as amostras foram submetidas a um único ciclo de congelamento e descongelamento à temperatura ambiente, seguido de nova centrifugação ($447,2 \times g$ por 5 minutos, em temperatura ambiente). Posteriormente, foram retiradas alíquotas de 400 μL de soro de cada tubo, transferidas para criotubos e mantidas em freezer a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ para posterior dosagem dos biomarcadores imunológicos circulantes. O volume remanescente foi armazenado nos freezers do bioreservatório da UnB. As amostras pertencentes a participantes que não autorizaram o uso em pesquisa foram descartadas conforme o protocolo ético.

As amostras destinadas à análise dos biomarcadores imunológicos foram posteriormente encaminhadas, sob condições controladas de transporte e temperatura, do Laboratório de Dermatologicologia da UnB ao Instituto René Rachou da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), em Belo Horizonte, Minas Gerais. Todo o processo de envio seguiu rigorosamente as normas de biossegurança, as diretrizes éticas vigentes para a manipulação e transporte de material biológico humano, bem como a legislação sanitária nacional aplicável à pesquisa científica.

QUANTIFICAÇÃO DE MEDIADORES IMUNOLÓGICOS SOLÚVEIS

Os mediadores imunológicos solúveis no soro foram quantificados a partir de 50 μL de cada amostra enviada, utilizando um ensaio multiplex de microesferas de alta capacidade (Bio-Plex Pro™ Human Cytokine 27-plex Assay, Bio-Rad

Laboratories, Hercules, CA, EUA). As concentrações de quimiocinas (CXCL8; CCL11; CCL3; CCL4; CCL2; CCL5; CXCL10), citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β ; IL-6; TNF- α ; IL-12; IFN- γ ; IL-15; IL-17), citocinas reguladoras (IL-1Ra; IL-4; IL-5; IL-9; IL-10; IL-13) e fatores de crescimento (FGF-básico; PDGF; VEGF; G-CSF; GM-CSF; IL-2; IL-7) foram mensuradas de acordo com as instruções do fabricante. Os ensaios multiplex de microesferas foram realizados em lotes paralelos por um técnico treinado, nas instalações de citometria de fluxo da FIOCRUZ-Minas. A análise quantitativa dos mediadores solúveis no soro foi realizada utilizando ajuste de curva logística de 5 parâmetros a partir de curvas padrão, com os resultados expressos em pg/mL. Todos os procedimentos experimentais foram conduzidos seguindo as boas práticas de laboratório para quantificação de mediadores imunológicos solúveis utilizando microarranjos de múltiplos analitos.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foram empregadas abordagens distintas para mineração de dados e análise estatística, incluindo perfil panorâmico, magnitude e significância de razão de mudança (*fold change*), assinaturas sobrepostas e delta ascendente, redes integrativas, mapas de calor (*colormaps*), análise multivariada por curvas ROC, árvores de decisão e quadros de classificação.

Diversos programas de software foram utilizados para análise de dados, a fim de maximizar as capacidades específicas de cada pacote estatístico. Embora alguns programas possuam funcionalidades operacionais semelhantes, também oferecem recursos únicos que foram fundamentais para uma análise exploratória mais abrangente.

As estatísticas descritivas foram realizadas utilizando o software Prism 8.0.2 (GraphPad Software, San Diego, EUA), com avaliação da normalidade dos dados pelo teste de Shapiro–Wilk. Considerando a distribuição não paramétrica de todos os conjuntos de dados, as análises comparativas entre os grupos COVID-19 (-) e COVID-19 (+), bem como entre subconjuntos do grupo COVID-19 (+), foram realizadas

utilizando o teste de Mann–Whitney. Em todos os casos, a significância estatística foi definida como $p < 0,05$.

A razão de mudança nos níveis séricos de cada mediador solúvel no grupo COVID-19 (+) foi calculada como a razão entre o nível observado em cada participante COVID-19 (+) e o nível mediano observado no grupo COVID-19 (-). A magnitude das alterações nos níveis séricos dos mediadores solúveis foi determinada considerando o valor de referência de *fold change* igual a 1,0, utilizado como base para indicar redução ($< 1,0$) ou aumento ($> 1,0$) nos níveis dos biomarcadores no grupo COVID-19 (+), bem como ao longo do tempo decorrido entre o rastreo descrito anteriormente e a infecção por COVID-19 durante o acompanhamento de 19 meses. Os gráficos de linhas foram gerados utilizando o Microsoft Excel 365, versão 2024.

Análises complementares foram realizadas a partir dos valores estatísticos obtidos por meio do teste de Mann–Whitney nas comparações entre subconjuntos COVID-19 (+) e COVID-19 (-). As significâncias das razões de mudança de cada mediador imune solúvel foram utilizadas para a construção de gráficos do tipo vulcão (volcano plots). Foram aplicados pontos de corte em $p < 0,05$ e $p < 0,0001$ para análises subsequentes.

Análises adicionais dos mediadores imunológicos solúveis séricos, denominadas assinaturas, foram conduzidas por meio da conversão dos valores contínuos de concentração (pg/mL) em dados categóricos. Isso foi expresso como proporção (%) de participantes cujos níveis excederam valores de corte pré-definidos, estabelecidos como a mediana global de concentração para cada mediador, conforme segue: CXCL8 = 4,6; CCL11 = 11,9; CCL3 = 2,1; CCL4 = 17,7; CCL2 = 12,2; CCL5 = 473,9; CXCL10 = 28,2; IL-1 β = 0,2; IL-6 = 0,3; TNF- α = 7,4; IL-12 = 0,8; IFN- γ = 0,9; IL-15 = 65,3; IL-17 = 0,9; IL-1Ra = 126,8; IL-4 = 0,9; IL-5 = 9,6; IL-9 = 18,2; IL-10 = 0,8; IL-13 = 0,8; FGF-basic = 1,5; PDGF = 382,1; VEGF = 7,4; G-CSF = 12,3; GM-CSF = 0,3; IL-2 = 0,8; IL-7 = 4,1 pg/mL.

As assinaturas foram então avaliadas utilizando o percentil 50 como limiar para identificar o subconjunto de mediadores imunológicos elevados dentro de cada grupo de estudo. Para explorar mais detalhadamente as diferenças específicas entre os grupos, os deltas das assinaturas foram calculados como a diferença nas proporções (%) de participantes com níveis de mediadores acima do valor de corte. Esses deltas

foram visualizados em perfis ascendentes para facilitar a interpretação comparativa entre os grupos.

Redes integrativas de mediadores imunológicos solúveis séricos foram construídas a partir de análises de correlação de Spearman entre pares de mediadores. Apenas correlações estatisticamente significativas ($p < 0,05$) foram incluídas na análise. A plataforma Cytoscape (<https://cytoscape.org>) foi utilizada para criar layouts em clusters, com os mediadores solúveis classificados como quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, citocinas reguladoras ou fatores de crescimento.

Os mapas de calor foram construídos utilizando a formatação condicional do Microsoft Excel 365 (versão 2412), com o objetivo de ilustrar a conectividade geral entre os mediadores imunológicos solúveis nos subgrupos COVID-19 (-) e COVID-19 (+). A análise foi baseada no número de correlações de cada mediador em todos os subgrupos. Uma legenda de cores foi empregada para destacar a contribuição de cada mediador imune para a rede integrada. As redes foram construídas com base em matrizes de correlação de Spearman, incluindo apenas correlações significativas e fortes ($p < 0,05$; $r > |0,67|$). Os nós representam mediadores imunológicos individuais, com a espessura da borda do nó indicando o número de correlações fortes, e a área de fundo circular proporcional à conectividade total na rede. As arestas pretas indicam ligações de coexpressão significativas entre mediadores (isto é, correlações positivas fortes, indicando que os níveis séricos desses mediadores tendem a aumentar ou diminuir de forma coordenada entre os indivíduos). Um mapa de calor complementa os gráficos de rede ao exibir a densidade de correlações para cada mediador entre os subgrupos clínicos.

Algoritmos de aprendizado de máquina foram aplicados por meio de regressão linear com máquinas de vetor de suporte (SVM) e classificação por vizinhos mais próximos (KNN), com o objetivo de avaliar o desempenho dos mediadores imunológicos séricos na classificação dos subgrupos.

Análises exploratórias multivariadas com curvas ROC foram realizadas utilizando o software Prism, versão 8, para cada mediador solúvel, a fim de estimar os índices de desempenho, incluindo área sob a curva (AUC), sensibilidade (Se), especificidade (Sp) e razão de verossimilhança (LR). Gráficos de dispersão com valores individuais foram construídos para detalhar o desempenho dos mediadores previamente selecionados.

O software WEKA, versão 3.6.11, foi utilizado para construir árvores de decisão (raízes e ramos), com base no conjunto pré-selecionado de atributos, visando classificar os indivíduos conforme o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e o desfecho da doença. Os escores de desempenho considerados foram a acurácia e a validação cruzada leave-one-out (LOOCV). Mapas de calor foram construídos para ilustrar a classificação dos indivíduos.

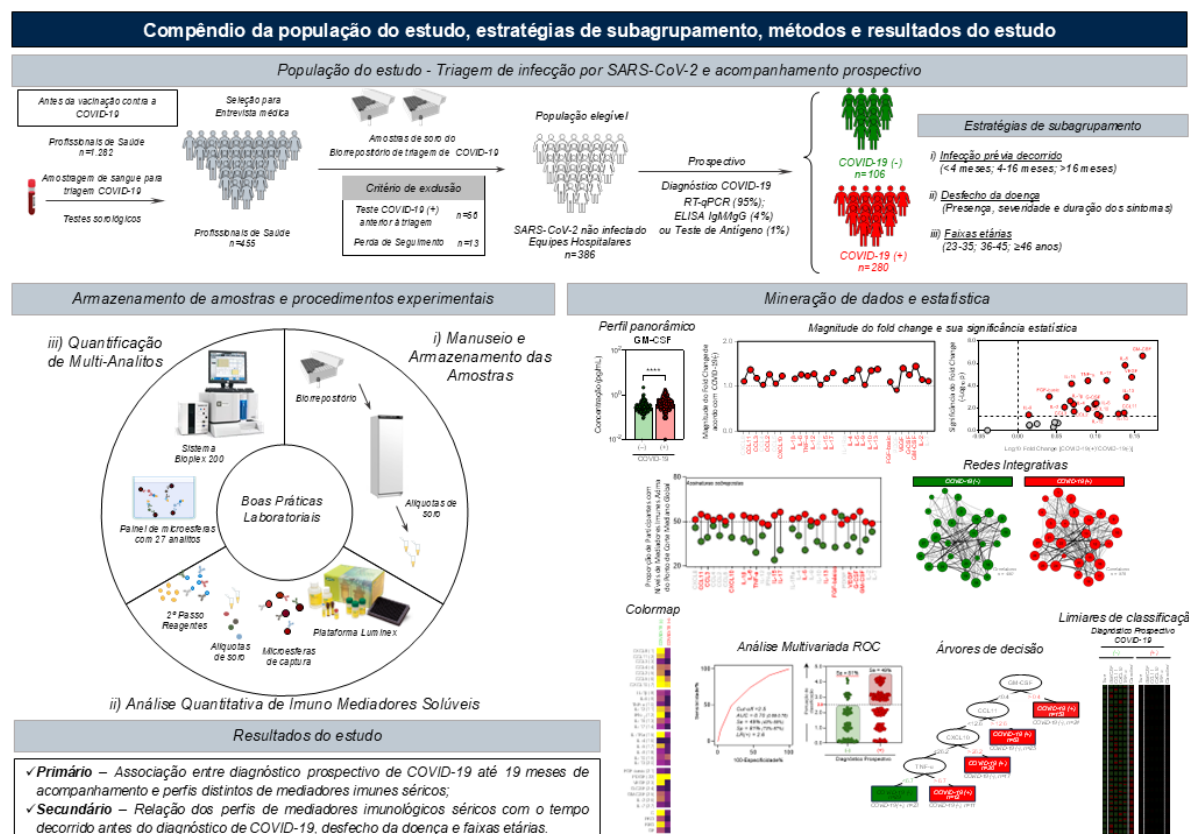


Figura 1. Compêndio da população, estratégias de subagrupamento, métodos e resultados do estudo. Estudo observacional prospectivo conduzido em funcionários do HUB/UnB, iniciado em junho de 2020, antes da vacinação contra a COVID-19. Do total de 1.282 profissionais rastreados, 455 forneceram amostras basais de soro; 56 apresentaram infecção prévia e 13 foram excluídos por perda de seguimento, resultando em uma coorte final de 386 indivíduos inicialmente não infectados por SARS-CoV-2. As amostras foram processadas e armazenadas a -20°C até a quantificação de mediadores imunológicos solúveis por ensaio multiplex de microesferas (tecnologia multianálito). Durante 19 meses de acompanhamento, o diagnóstico prospectivo de COVID-19 foi confirmado por RT-qPCR (95%), ELISA IgM/IgG (4%) ou teste de antígeno (1%), permitindo a classificação em COVID-19 negativos ($n = 106$) e positivos ($n = 280$). Estratégias de subagrupamento adicionais incluíram: (i) tempo até a infecção (< 4; 4–16; > 16 meses), (ii) desfecho clínico [presença de sintomas (assintomáticos vs. sintomáticos), gravidade (leve vs. grave) e duração dos sintomas (< 4 vs. ≥ 4 semanas)], e (iii) faixas etárias (23–35; 36–45; ≥ 46 anos). As análises seguiram boas práticas laboratoriais e integraram múltiplas abordagens estatísticas, incluindo perfil panorâmico, fold change e significância, assinaturas sobrepostas, redes integrativas, mapas de calor, análise multivariada ROC, árvores de decisão e quadros de classificação.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO DOS PARTICIPANTES

A amostra analisada foi composta por 386 participantes, dos quais 280 (73%) apresentaram diagnóstico prospectivo de COVID-19 e 106 (27%) permaneceram não infectados durante o período de acompanhamento.

Em ambos os grupos, observou-se predominância do sexo feminino: 73% no grupo COVID-19 positivo ($n = 204$) e 75% no grupo COVID-19 negativo ($n = 80$). A proporção de indivíduos do sexo masculino foi semelhante entre os grupos, representando 27% dos infectados ($n = 76$) e 25% dos não infectados ($n = 26$).

A mediana de idade foi de 39 anos no grupo COVID-19 positivo ($n = 280$) e 40 anos no grupo negativo ($n = 106$), com amplitudes variando de 23 a 59 anos e de 24 a 67 anos, respectivamente.

O índice de massa corporal (IMC) foi semelhante entre os grupos, com valores medianos de 25,2 kg/m² no grupo COVID-19 negativo (intervalo: 19–40) e 25,4 kg/m² no grupo positivo (intervalo: 16–52).

A presença de comorbidades foi reportada por 43% dos participantes do grupo COVID-19 negativo ($n = 46$) e por 38% do grupo COVID-19 positivo ($n = 107$). Em 18% ($n = 49$), essa informação não estava disponível, todos pertencentes ao grupo COVID-19 positivo.

A carga horária semanal predominante foi de 36 horas em ambos os grupos, representando 39% dos participantes não infectados ($n = 41$) e 42% dos infectados ($n = 117$). Observou-se que a proporção de profissionais que relataram trabalhar mais de 40 horas semanais foi substancialmente menor entre os infectados (1%) do que entre os não infectados (8%).

A infecção por SARS-CoV-2 foi confirmada predominantemente por RT-qPCR (95%), com menor número de casos diagnosticados por sorologia (IgM/IgG, 4%) ou teste de antígeno (1%).

Entre os participantes com diagnóstico prospectivo de COVID-19 ($n = 280$), o tempo decorrido entre a coleta basal e a infecção foi estratificado em tercis estatísticos

ao longo do período de 19 meses de acompanhamento. A distribuição mostrou-se relativamente equilibrada: 95 indivíduos (34%) foram diagnosticados em menos de 4 meses, 99 (35%) entre 4 e 16 meses e 86 (31%) após mais de 16 meses da coleta inicial.

Dos 280 participantes com diagnóstico prospectivo de COVID-19, a maioria apresentou forma clínica sintomática (n = 203; 73%), enquanto apenas 14 (5%) foram assintomáticos. A informação sobre presença de sintomas não estava disponível para 63 indivíduos (22%).

Com base nos critérios do NIH (2025), os casos foram classificados quanto à gravidade em dois grupos: “leve” (assintomáticos e leves) e “grave” (moderados e graves). A maioria dos participantes foi classificada como leve (n = 185; 66%), enquanto 32 (11%) apresentaram quadros considerados graves. Três participantes evoluíram para formas graves, porém nenhum óbito por COVID-19 foi registrado, conforme consulta aos bancos oficiais PAINEL COVID e Sistema de Informação sobre Mortalidade (SIM). Em 63 casos (23%), os dados de gravidade estavam ausentes.

Com relação ao número de sintomas, 110 participantes (39%) apresentaram até 4 sintomas e 93 (33%) apresentaram 5 ou mais. Em 77 casos (28%) essa informação estava ausente.

Quanto à duração dos sintomas, seguiu-se a definição do CDC (2021) para sintomas persistentes: 95 participantes (34%) relataram sintomas por menos de quatro semanas, enquanto 77 (27%) apresentaram sintomas por quatro semanas ou mais. Não havia informação disponível para 108 participantes (39%).

Em síntese, a caracterização clínica e demográfica da amostra demonstrou grande homogeneidade entre os grupos com e sem diagnóstico prospectivo de COVID-19, reforçando a comparabilidade entre eles. As diferenças observadas, como a menor proporção de profissionais com carga horária superior a 40 horas semanais entre os infectados, não configuraram um padrão sistemático de risco. Entre os participantes infectados, predominou a forma clínica sintomática, em sua maioria leve, sem registro de óbitos durante o período de acompanhamento. Esses achados delineiam o perfil global da coorte e fornecem o contexto necessário para a interpretação dos resultados imunológicos subsequentes.

Tabela 2. Características Demográficas, Laboratoriais e Clínicas dos Participantes, Categorizados Segundo Diagnóstico Prospectivo de COVID-19.

Características	Diagnóstico prospectivo de COVID-19	
	COVID-19(-)	COVID-19(+)
Número Total (%)	106 (37%)	280 (73%)
Sexo (%)	F=80 (75%); M=26 (25%)	F=204 (73%); M=76 (27%)
Idade (mediana; mín-máx)	40 (24-67)	39 (23-59)
Faixas etárias		
23-35 anos - n (%)	29 (27%)	89 (32%)
36-45 anos - n (%)	44 (42%)	115 (41%)
≥46 anos - n (%)	33 (31%)	66 (27%)
IMC (kg/m²)	25.2 (19-40)	25.4 (16-52)
Comorbidades		
Não	60 (57%)	124 (44%)
Sim	46 (43%)	107 (38%)
N.A.	-	49 (18%)
Carga horária semanal		
24-30 horas	31 (29%)	48 (17%)
36 horas	41 (39%)	117 (42%)
40 horas	20 (19%)	57 (21%)
>40 horas	9 (8%)	4 (1%)
N.A.	5 (5%)	54 (19%)
Método de diagnóstico COVID-19		
RT-qPCR	-	264 (95%)
Sorologia	-	12 (4%)
Teste de antígeno	-	4 (1%)
Tempo decorrido até infecção		
<4 meses	-	95 (34%)
4-16 meses	-	99 (35%)
>16 meses	-	86 (31%)
Forma Clínica		
Assintomático	-	14 (5%)
Sintomático	-	203 (73%)
N.A.	-	63 (22%)
Número de sintomas		
≤ 4	-	110 (39%)
≥ 5	-	93 (33%)
N.A.	-	77 (28%)
Severidade		
Leve (Assintomático + Leve)	-	185 (66%)
Grave (Moderado e Grave)	-	32 (11%)
N.A.	-	63 (23%)
Duração dos sintomas		
< 4 semanas	-	95 (34%)
≥ 4 semanas	-	77 (27%)
N.A.	-	108 (39%)

COVID-19 (+) = Diagnóstico positivo prospectivo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; COVID-19 (-) = Diagnóstico prospectivo negativo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; F = Feminino; M = Masculino; IMC = Índice de Massa Corporal; N.A. = Não disponível; Mín = Mínimo; Máximo = Máximo.

ANÁLISE DOS BIOMARCADORES

Perfil panorâmico de mediadores imunológicos solúveis associados ao diagnóstico prospectivo de COVID-19

Uma análise abrangente dos 27 imunomediadores séricos revelou que a maioria (n = 20) dos mediadores imunológicos apresentou níveis circulantes elevados no início do estudo entre os participantes do subgrupo que teve diagnóstico prospectivo de COVID-19 em comparação com o subgrupo que não adquiriu a doença, e abrangendo todas as classes de mediadores investigados, nomeadamente quimiocinas (CCL11, CCL3, CCL2, CXCL10), citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IL-15, IL-17), citocinas reguladoras (IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13) e fatores de crescimento (FGF-*basic*, VEGF, G-CSF, GM-CSF, IL-2 (FIGURA 2).

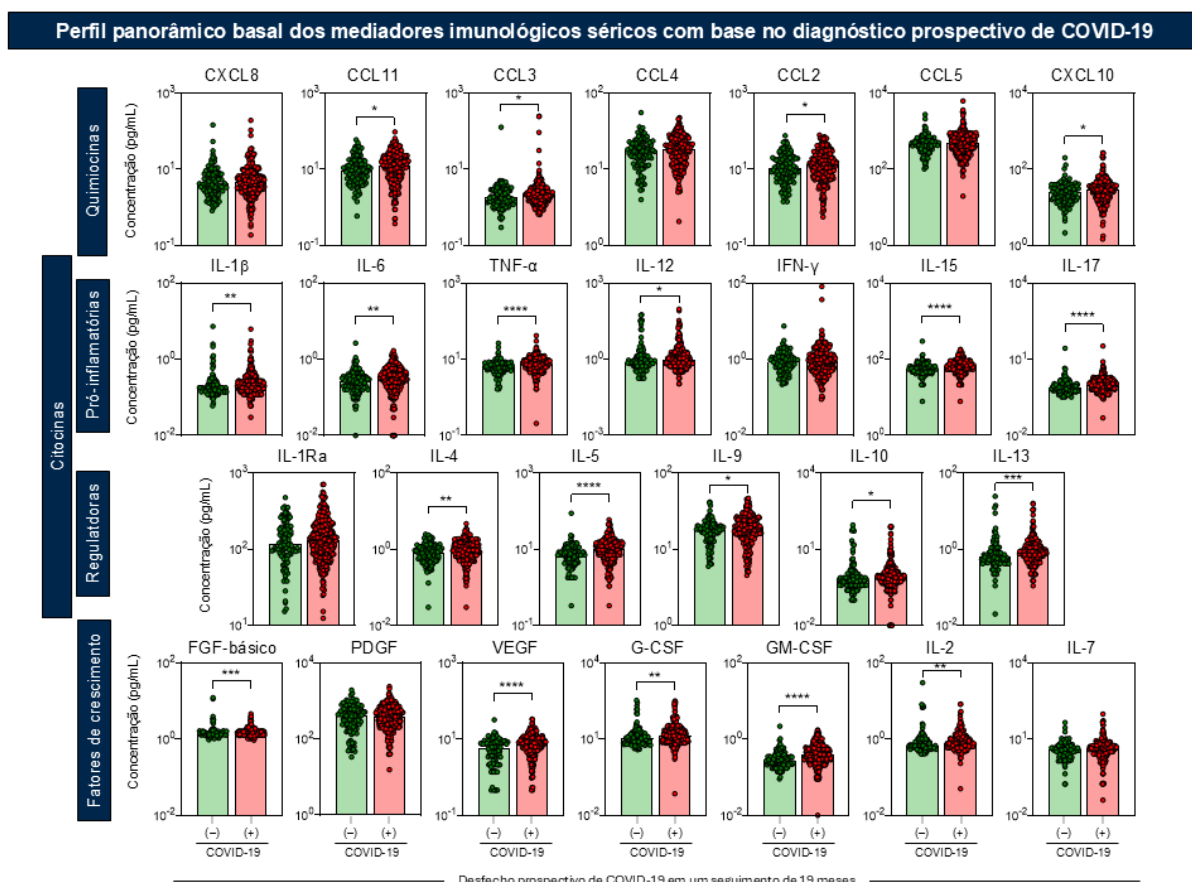


Figura 2. Perfil panorâmico basal dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19. Níveis de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento foram quantificados em amostras de soro de funcionários do hospital inicialmente não infectados por SARS-CoV-2, categorizados conforme o diagnóstico prospectivo de COVID-19 após 19 meses de acompanhamento, referidos como: COVID-19 (-) (●, n = 106) e COVID-19 (+) (●, n = 280). As dosagens foram realizadas na plataforma Luminex Bio-Plex, conforme descrito na seção Materiais e Métodos. Os resultados são apresentados como distribuição de pontos individuais sobrepostos às barras, com indicação das medianas dos mediadores imunológicos séricos. A comparação entre os grupos COVID-19 (-) e COVID-19 (+) foi realizada pelo teste de Mann-Whitney. Diferenças estatisticamente significativas estão indicadas por linhas de conexão e símbolos: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001; ****p < 0,0001.

Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19

As análises longitudinais revelaram que o perfil basal dos mediadores imunológicos influenciou o tempo decorrido até o diagnóstico de COVID-19 entre os indivíduos inicialmente não infectados (FIGURA 3). A análise dos dados demonstrou que os participantes prospectivamente diagnosticados com COVID-19 (+) em um intervalo curto após a inclusão no estudo (<4 meses) apresentaram níveis basais mais elevados de mediadores imunológicos, em comparação àqueles diagnosticados entre

4 e 16 meses ou após mais de 16 meses. Notavelmente, os grupos 4–16 meses e >16 meses também exibiram níveis mais elevados desses mediadores em comparação ao grupo que permaneceu COVID-19 (–). Esse padrão incluiu a regulação positiva de 22 dos 27 mediadores imunológicos analisados, incluindo: quimiocinas (CCL11, CCL3, CCL2, CXCL10), citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-12, IFN- γ , IL-15, IL-17), citocinas reguladoras (IL-1Ra, IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13) e fatores de crescimento (FGF-*basic*, VEGF, G-CSF, GM-CSF, IL-2).

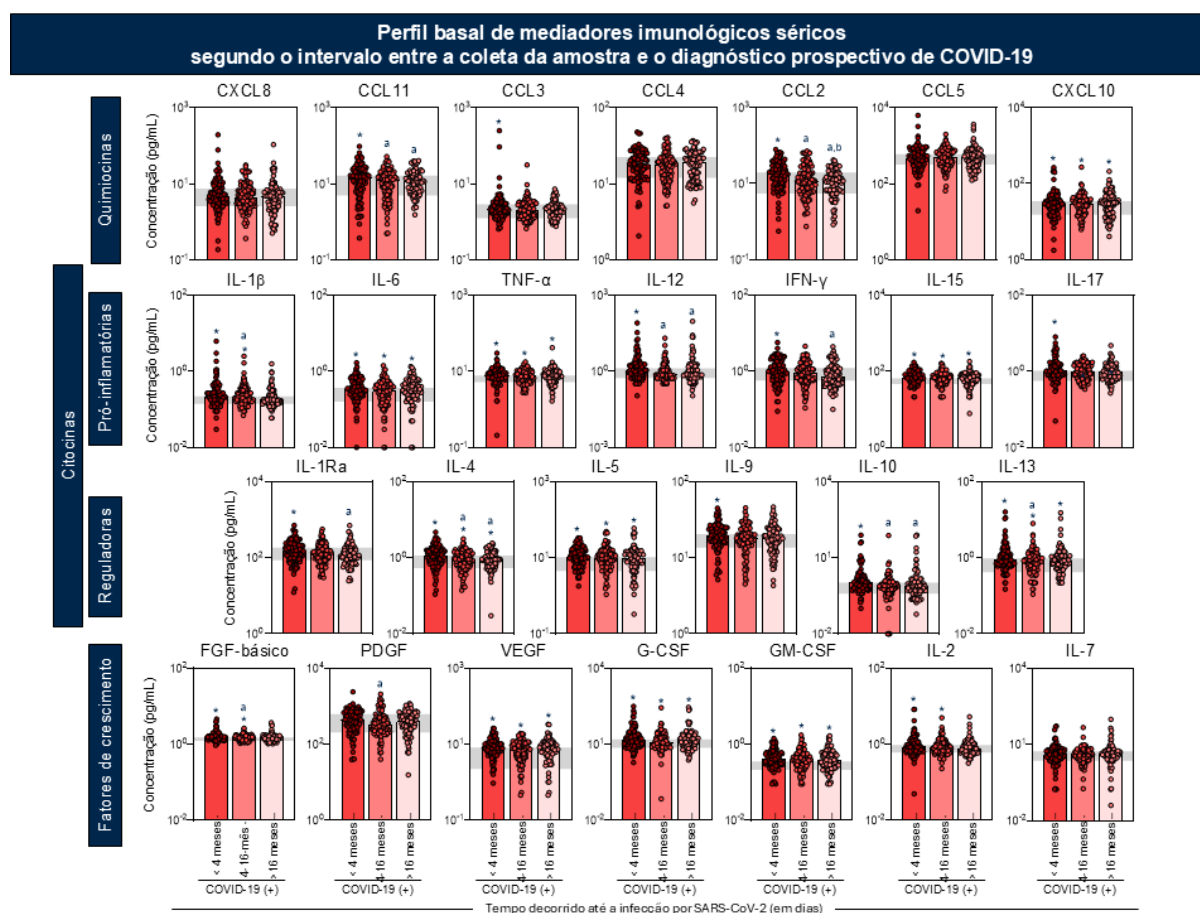


Figura 3. Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico prospectivo de COVID-19. Níveis de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento foram quantificados em amostras de soro de funcionários do hospital inicialmente não infectados por SARS-CoV-2, mas que receberam diagnóstico prospectivo de COVID-19 durante 19 meses de acompanhamento. Os participantes foram estratificados segundo o tempo até o diagnóstico em três categorias: < 4 meses (●, n = 95); 4-16 meses (●, n = 99) e > 16 meses (●, n = 86). As dosagens foram realizadas pela plataforma Luminex Bio-Plex, conforme descrito na seção Materiais e Métodos. A comparação entre os grupos de tempo decorrido (< 4 meses; 4–16 meses; > 16 meses) foi conduzida pelos testes de Kruskal-Wallis e Mann-Whitney. Diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) estão representadas por: (*) para comparações entre o grupo COVID-19 (–) (n = 106) e os subgrupos COVID-19 (+); e (a) ou (b) para comparações entre os subgrupos COVID-19 (+) (< 4 meses; 4–16 meses; > 16 meses), respectivamente. A área sombreada em cinza representa o intervalo interquartil (25º–75º percentil) observado para o grupo COVID-19 (–) (n = 106).

Magnitude e a significância do fold change dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19 e o tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19.

A Figura 4 ilustra a ordem de magnitude e o nível de significância das variações (*fold change*) nos mediadores imunológicos entre todos os participantes COVID-19 (+) em comparação com os participantes COVID-19 (–). De acordo com essa abordagem que considera o grupo como um todo, os participantes COVID-19 (+) apresentaram níveis elevados de diversos mediadores imunológicos, com maior ordem de magnitude observada para GM-CSF, IL-5, VEGF, IL-13, CCL11 e IL-10.

Além disso, a análise por subgrupos, categorizando os participantes COVID-19 (+) segundo o tempo decorrido até a infecção, demonstrou que o grupo diagnosticado com COVID-19 em menos de 4 meses apresentou um conjunto mais amplo de mediadores imunológicos com níveis aumentados, em comparação com aqueles diagnosticados entre 4–16 meses ou após 16 meses ou mais (FIGURA 4).

Seguindo as análises, avaliamos a magnitude e a significância do *fold change* dos mediadores entre os participantes que desenvolveram COVID-19 e os que permaneceram negativos.

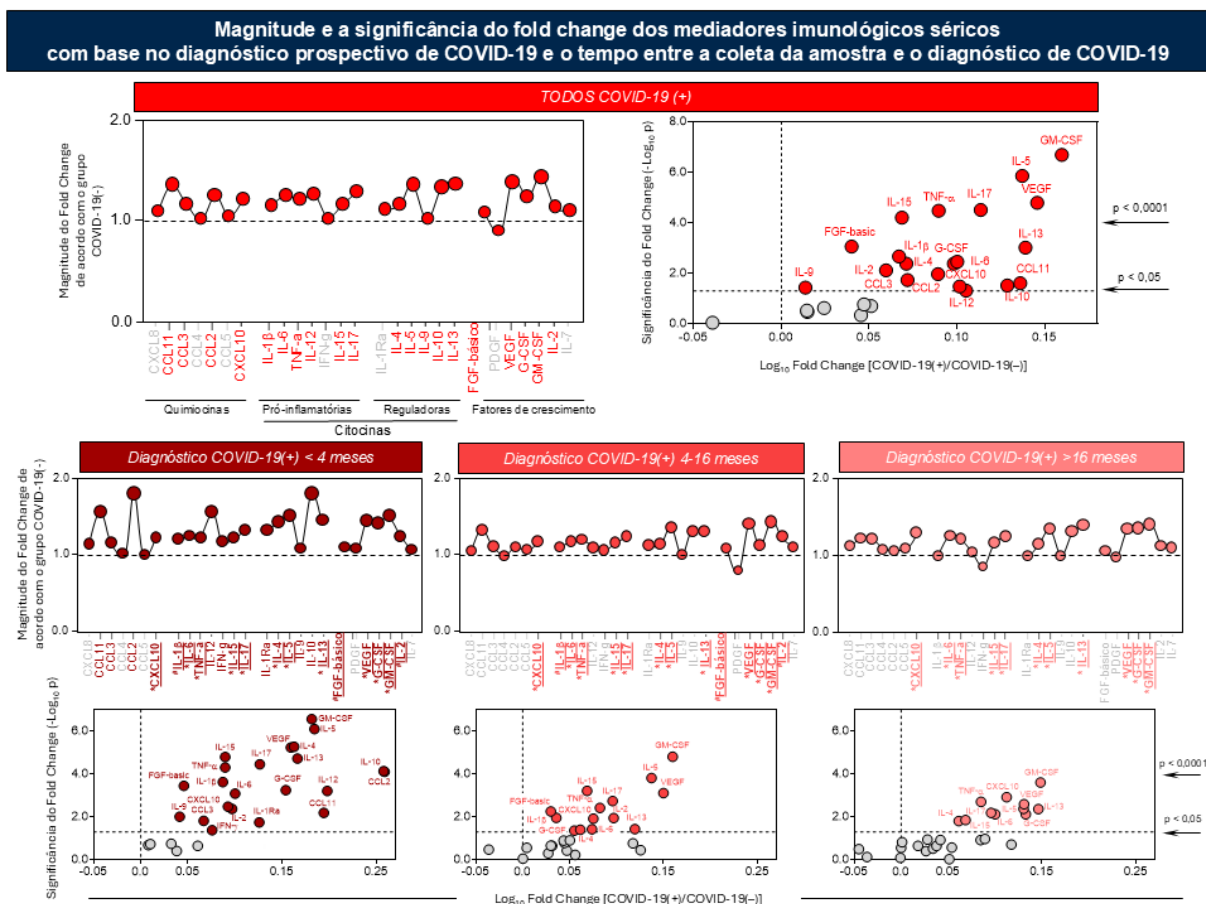


Figura 4. Magnitude e a significância do fold change dos mediadores imunológicos séricos com base no diagnóstico prospectivo de COVID-19 e o tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19. Níveis de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento foram avaliados em funcionários do hospital inicialmente não infectados, mas com diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19 (●, n = 280), acompanhados por até 19 meses. Os participantes foram estratificados de acordo com o tempo até o diagnóstico: < 4 meses (●, n = 95); 4-16 meses (●, n = 99) e > 16 meses (●, n = 86). O *fold change* foi calculado em relação às medianas do grupo COVID-19 (-) (n = 106), adotando-se como referência o valor 1,0, indicativo de ausência de variação. Valores < 1,0 representam reduções e > 1,0 elevações dos níveis séricos. Os *volcano plots* ilustram a relação entre a magnitude das diferenças (eixo X: \log_{10} *fold change*) e a significância estatística (eixo Y: $-\log_{10} p$). Biomarcadores simultaneamente mais elevados e estatisticamente significativos situam-se no quadrante superior direito, sendo considerados os mais distintivos entre COVID-19 (+) e (-). Mediadores com significância ($p < 0,05$ ou $p < 0,0001$) são destacados em cores distintas, enquanto os sublinhados indicam diferenças em pelo menos dois dos três intervalos avaliados. Asteriscos (*) indicam diferenças entre todos os grupos de tempo decorrido e hashtag (#) diferenças específicas entre os grupos < 4 meses e 4–16 meses.

Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19

Como complemento aos achados apresentados nas Figuras 2, 3 e 4, a Figura 5 exhibe o mesmo conjunto de dados em uma representação mais intuitiva e clinicamente aplicável. Para essa análise, as concentrações dos mediadores

imunológicos foram convertidas de valores contínuos (pg/mL) em variáveis categóricas, utilizando como ponto de corte a mediana global de cada mediador na amostra total. Dessa forma, foi possível expressar os resultados como a proporção (%) de participantes com níveis acima da mediana, permitindo a construção de “assinaturas imunológicas” em formato categórico e a ordenação dos valores delta entre os grupos comparados.

Observou-se que, entre os participantes que desenvolveram COVID-19, os mediadores estavam mais frequentemente elevados em relação àqueles que permaneceram negativos. A análise de “delta ascendente” identificou um conjunto de 15 mediadores com maior capacidade discriminativa para o diagnóstico positivo, apresentando diferenças estatisticamente significativas entre os grupos COVID-19 (+) e (-).

Além disso, o painel B da Figura 5 evidencia que essas assinaturas foram mais pronunciadas nos indivíduos que se infectaram nos primeiros quatro meses após a triagem, reduzindo progressivamente sua intensidade conforme aumentava o intervalo até o diagnóstico.

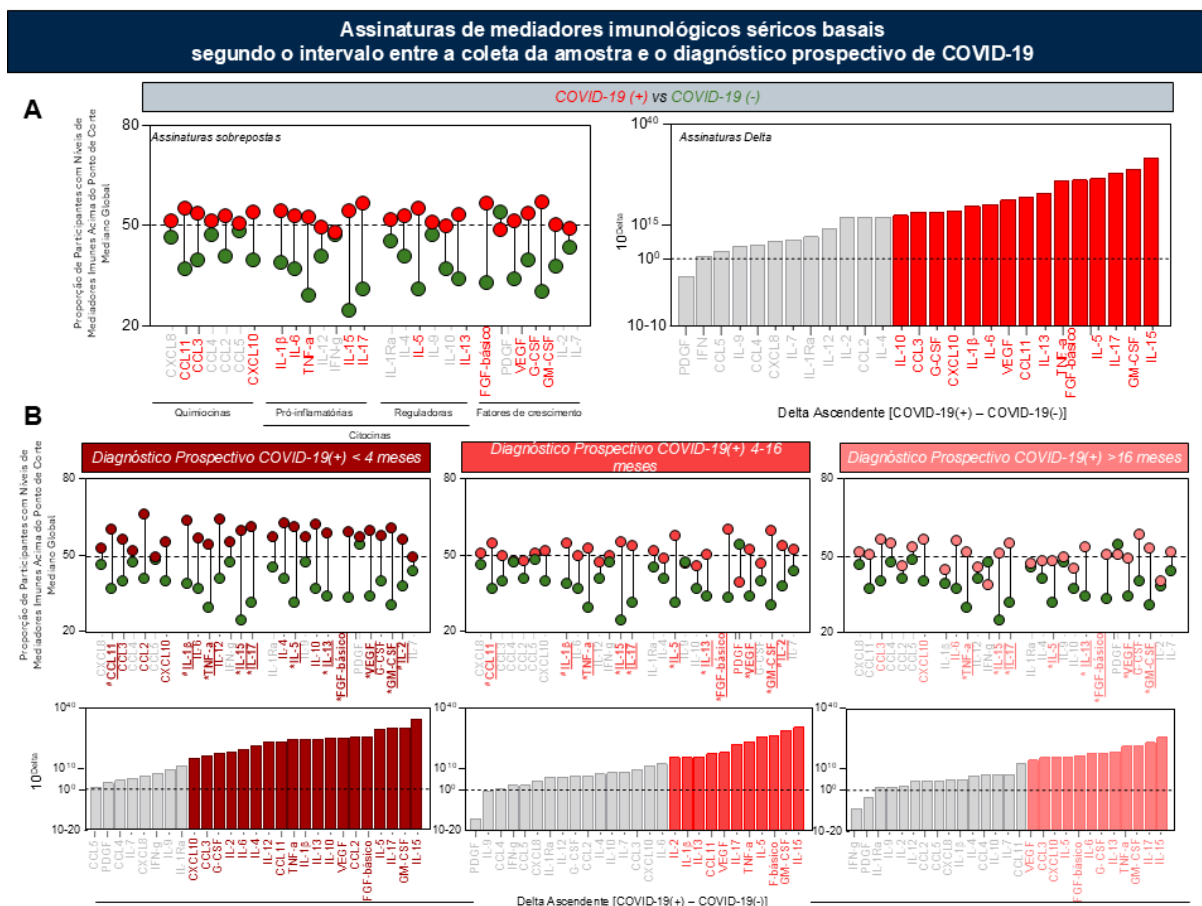


Figura 5. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico prospectivo de COVID-19. Foram analisadas assinaturas sobrepostas e delta ascendente de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento em amostras de soro de (A) funcionários do hospital com diagnóstico prospectivo negativo [COVID-19 (-), ●, n = 106] e positivo [COVID-19 (+), ●, n = 280] e (B) estratificados conforme o tempo decorrido até o diagnóstico ao longo de 19 meses: < 4 meses (●, n = 95), 4–16 meses (●, n = 99) e > 16 meses (●, n = 86). Parâmetros > 50% foram considerados como altos produtores. Os valores delta, definidos como a diferença absoluta nas proporções (%) de indivíduos com níveis elevados entre os grupos, foram representados graficamente em ordem crescente. Para melhor contraste visual, os deltas foram plotados em escala logarítmica, embora calculados em escala linear. As barras vermelhas destacam os mediadores com maiores diferenças entre os grupos ($p < 0,05$), sendo as mais escuras indicativas de alterações mais pronunciadas próximas ao momento da infecção. Mediadores sublinhados indicam diferenças significativas ($p < 0,05$) em pelo menos dois dos três intervalos avaliados. Asteriscos (*) representam diferenças significativas entre todos os grupos de tempo e hashtag (#) indica diferenças específicas entre < 4 meses e 4–16 meses.

Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo desfechos clínicos no subgrupo com diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19.

A Figura 6 apresenta análises comparativas entre diferentes desfechos clínicos. O subgrupo sintomático apresentou níveis mais elevados de IL-7, CCL-5 e TNF- α . O grupo assintomático apresentou níveis mais elevados de IL-12, FGF básico, IL-1 β , IL-2 e IL-6 em comparação aos indivíduos sintomáticos.

Participantes que evoluíram para formas graves de COVID-19 exibiram níveis mais altos de IL-1Ra e IFN- γ . Os que apresentaram formas leves exibiram níveis mais elevados de PDGF, IL-4, CCL-5, IL-12 e IL-13 em relação àqueles que apresentaram formas graves da doença.

Os participantes que evoluíram com duração de sintomas menor que 4 semanas apresentaram níveis basais mais altos de IL-17 em relação ao grupo com sintomas de duração maior que 4 semanas.

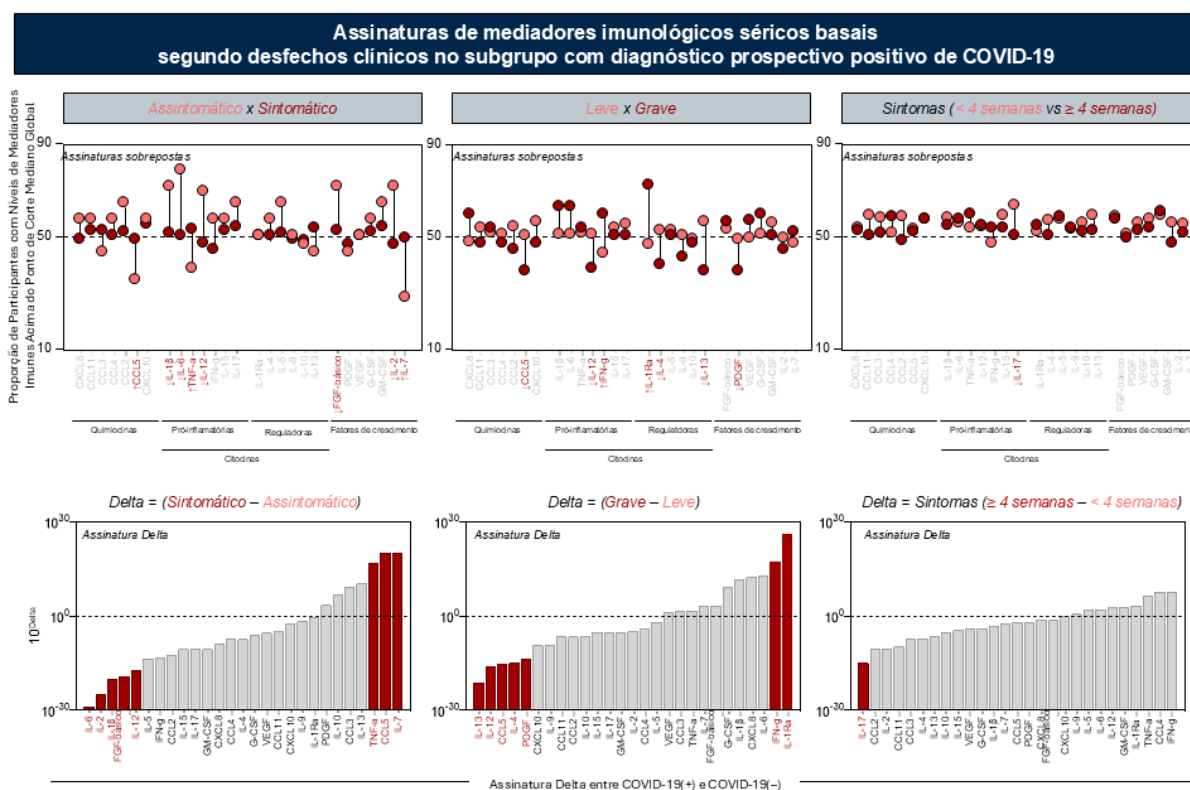


Figura 6. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais segundo desfechos clínicos no subgrupo com diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19. Foram avaliadas assinaturas sobrepostas e delta ascendente de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento em amostras de soro de funcionários do hospital acompanhados por até 19 meses. Os participantes que apresentaram diagnóstico prospectivo positivo de COVID-19 [COVID-19 (+), ●, n = 280] foram estratificados conforme os desfechos clínicos: assintomático (●, n = 14) vs. sintomático (●, n = 203); leve (●, n = 185) vs. grave (●, n = 32); e duração dos sintomas < 4 semanas (●, n = 154) vs. ≥ 4 semanas (●, n = 77). Parâmetros > 50% foram considerados altos produtores. Os valores delta, definidos como a diferença absoluta nas proporções (%) de indivíduos com níveis elevados entre os subgrupos, são representados pelo comprimento da linha que conecta cada parâmetro e exibidos em ordem crescente em escala logarítmica (calculados em escala linear). As barras vermelhas nos gráficos de assinatura delta destacam os mediadores com maiores diferenças ($p < 0,05$) entre os subgrupos. Setas indicam direção da variação, representando aumento ou redução relativa da expressão.

Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos

A Figura 7 apresenta a análise das redes integrativas de participantes COVID-19 negativos [COVID-19 (-)] e positivos [COVID-19 (+)]. A complexidade da rede foi significativamente maior no grupo COVID-19 (+), com 576 correlações identificadas, em comparação ao subgrupo COVID-19 (-), que apresentou 450 correlações (FIGURA 8A).

Análises adicionais considerando o tempo decorrido até o diagnóstico prospectivo de COVID-19 (+) demonstraram que, quanto menor o intervalo de tempo (<4 meses e 4–16 meses; $n = 484$ correlações), maior o número de correlações, em comparação ao subgrupo com diagnóstico tardio (>16 meses; $n = 446$ correlações) (FIGURA 8B).

A análise da rede conforme os desfechos clínicos revelou um padrão altamente interconectado entre os indivíduos sintomáticos ($n = 556$ correlações), em contraste com o grupo assintomático ($n = 270$ correlações). No entanto, observou-se uma menor densidade de agrupamentos entre mediadores imunológicos nos subgrupos com doença grave ($n = 350$ correlações) e sintomas persistentes por ≥ 4 semanas ($n = 386$ correlações), em comparação aos participantes com sintomas leves ($n = 586$ correlações) e sintomas com duração inferior a 4 semanas ($n = 564$ correlações) (FIGURA 8C). De forma consistente, os indivíduos COVID-19 (+) apresentaram maior número de correlações entre os mediadores imunológicos, especialmente entre citocinas pró-inflamatórias, citocinas reguladoras e fatores de crescimento (FIGURA 8D).

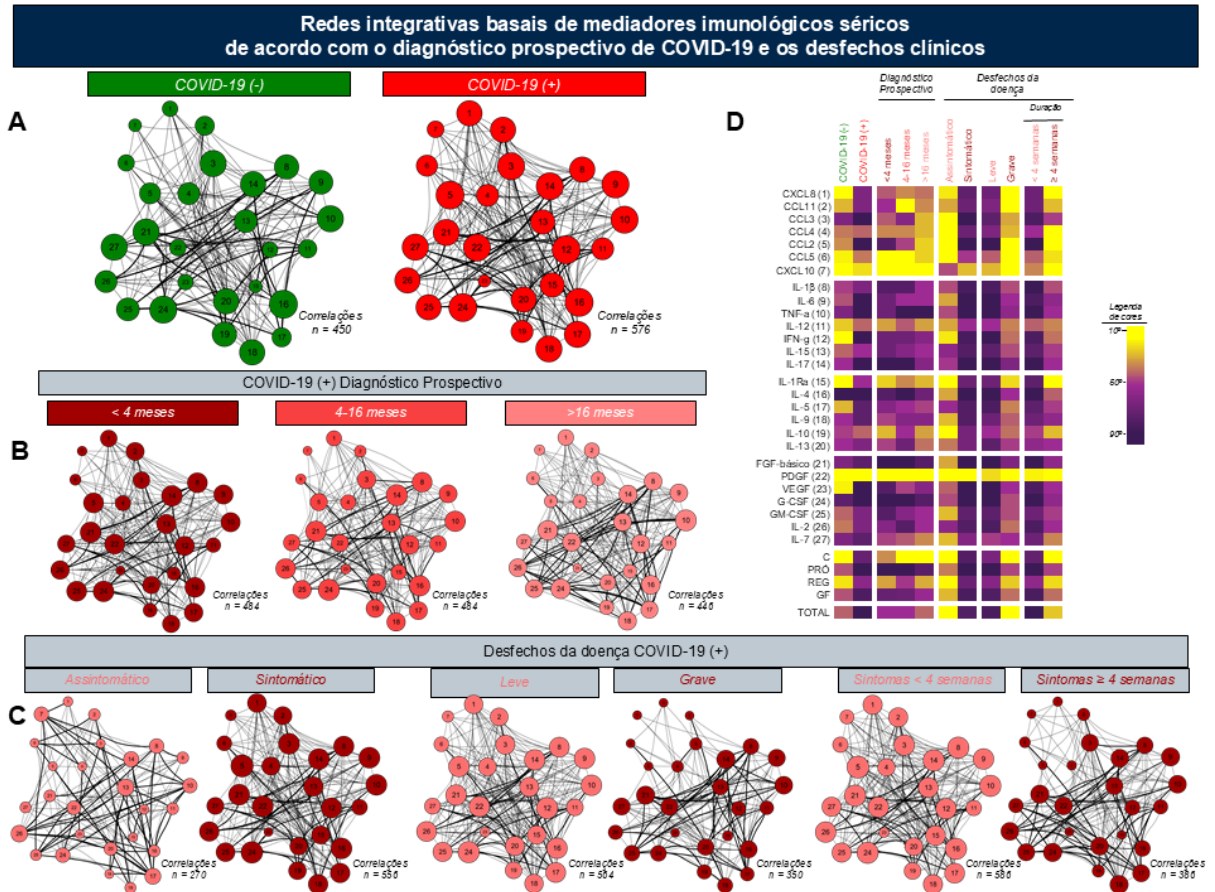


Figura 7. Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos. As redes foram construídas a partir de correlações fortes e estatisticamente significativas (teste de Spearman) entre mediadores imunológicos séricos. (A) Comparação entre participantes COVID-19 (-) (●, $n = 106$) e COVID-19 (+) (●, $n = 280$). (B) Subgrupos COVID-19 (+) estratificados pelo tempo decorrido até o diagnóstico: < 4 meses (●, $n = 95$); 4-16 meses (●, $n = 99$) e > 16 meses (●, $n = 86$). (C) Subgrupos COVID-19 (+) de acordo com os desfechos clínicos: assintomático (●, $n = 14$) vs. sintomático (●, $n = 203$); leve (●, $n = 185$) vs. grave (●, $n = 32$); duração dos sintomas < 4 semanas (●, $n = 154$) vs. \geq 4 semanas (●, $n = 77$). Nos grafos, os nós representam mediadores imunológicos, as arestas pretas correspondem às conexões significativas, e a espessura das bordas reflete o número de correlações associadas a cada mediador. O tamanho da área circular é proporcional ao total de correlações fortes em cada rede, cujo número está indicado em cada painel. (D) Mapas de calor (colormaps) ilustram a conectividade global entre mediadores nos diferentes grupos. As linhas representam os mediadores e as colunas, as condições clínicas avaliadas. O gradiente de cores do amarelo ao roxo indica a força das correlações: amarelo = baixa conectividade; roxo = alta conectividade.

Os índices de desempenho dos mediadores imunológicos séricos na categorização de profissionais hospitalares não infectados por SARS-CoV-2, segundo o diagnóstico prospectivo de COVID-19, o tempo entre a coleta da amostra e o diagnóstico, os desfechos clínicos e as faixas etárias ao longo de 19 meses de acompanhamento, apresentaram desempenho limitado nas análises ROC individuais. Conforme evidenciado nas Tabelas 3, 4, 5 e 6, nenhum mediador isolado demonstrou capacidade robusta de discriminar de forma consistente os diferentes grupos avaliados.

Tabela 3. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de Acordo com o Diagnóstico Prospectivo de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento*

Diagnóstico Prospectivo – COVID-19(+) vs. COVID-19(-)			
Parâmetros Corte [#]	AUC	Se	Sp
GM-CSF > 0,4	0.67	54,5 (48-60)	77,3 (68-84)
IL-5 > 9,7	0.66	52,8 (47-58)	73,7 (64-81)
VEGF > 5.6	0.65	70,2 (64-75)	52,5 (42-62)
IL-15 > 65,5	0.64	55,0 (49-60)	75,4 (66-82)
IL-17 > 0,9	0.63	54,2 (48-60)	72,6 (63-80)
TNF- α > 6.7	0.63	67,1 (61-72)	57,5 (48-66)
IL-13 > 0,7	0.61	68,2 (62-73)	57,5 (48-66)
FGF-básico > 1.4	0.60	57,1 (51-62)	66,9 (57-75)
IL-1b > 0,2	0.60	71,0 (65-76)	47,1 (37-56)
IL-6 > 0,4	0.59	42,0 (36-47)	76,1 (67-83)
G-CSF > 15,8	0.59	42,6 (36-48)	75,4 (66-82)
IL-4 > 0,9	0.59	57,5 (51-63)	57,5 (48-66)
IL-2 > 0,8	0.58	59,6 (53-65)	62,2 (52-70)
CXCL10 > 26,2	0.58	59,2 (53-64)	56,6 (47-65)
CCL3 > 1,5	0.57	75,3 (69-80)	41,5 (32-51)
IL-10 > 0,5	0.57	73,3 (67-78)	43,2 (34-52)
CCL11 > 12.6	0.57	50,7 (44-56)	67,9 (58-76)
CCL2 > 9.4	0.57	65,5 (59-70)	48,1 (38-57)
IL-12 > 0,7	0.56	66,7 (60-72)	48,5 (39-58)
IL-9 > 20,7	0.56	38,2 (32-44)	78,3 (69-85)
IL-7 > 4,9	0.54	38,1 (32-44)	72,1 (62-79)
CCL5 > 740	0.53	25,9 (21-31)	88,6 (81-93)
CCL4 > 19.4	0.53	45,7 (39-51)	64,1 (54-72)
IL-1Ra > 120	0.52	55,7 (49-61)	52,8 (43-62)
CXCL8 > 4.3	0.52	55,0 (49-60)	52,8 (43-62)
IFN- γ > 2.0	0.51	14.6 (10-19)	96,2 (90-98)
PDGF > 185	0.50	85,0 (80-88)	23,5 (16-32)

*COVID-19(-) = Diagnóstico prospectivo negativo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; COVID-19(+) = Diagnóstico positivo prospectivo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; # Os valores de corte são expressos em pg/mL. AUC = Área sob a curva característica de operação do receptor (ROC); Se = Sensibilidade; Sp = Especificidade.

Tabela 4. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de acordo com o Tempo Decorrido até o Diagnóstico de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento*

COVID-19(+) <4 meses vs. COVID-19(-)				COVID-19(+) 4-16 meses vs. COVID-19(-)				COVID-19(+) >16 meses vs. COVID-19(-)			
Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp
GM-CSF > 0,4	0.70	54,6 (44-64)	77,3 (68-84)	GM-CSF > 0,4	0.67	57,7 (47-67)	77,3 (68-84)	GM-CSF > 0,4	0.65	50,0 (39-60)	77,3 (68-84)
IL-5 > 9,7	0.69	58,1 (48-67)	73,7 (64-81)	IL-5 > 8,7	0.65	61,2 (51-70)	66,9 (57-75)	TNF-α > 7.4	0.62	59,3 (48-69)	66,9 (57-75)
VEGF > 5.7	0.68	76,2 (66-83)	53,6 (43-63)	IL-15 > 65,5	0.63	55,1 (45-64)	75,4 (66-82)	VEGF > 5.6	0.62	69,5 (58-78)	52,5 (42-62)
IL-15 > 65,5	0.67	57,7 (47-67)	75,4 (66-82)	VEGF > 8.5	0.63	45,7 (36-55)	77,3 (68-84)	IL-5 > 11,7	0.62	40,7 (30-51)	83,5 (75-89)
IL-17 > 0,9	0.66	59,6 (49-68)	72,6 (63-80)	IL-17 > 0,9	0.62	52,5 (42-62)	72,6 (63-80)	IL-17 > 0,9	0.61	56,9 (46-66)	66,9 (57-75)
CCL2 > 12.0	0.66	69,3 (59-77)	58,4 (48-67)	TNF-α > 7.4	0.61	56,5 (46-65)	66,9 (57-75)	IL-13 > 0,7	0.60	69,4 (58-78)	57,5 (48-66)
IL-13 > 0,7	0.66	73,4 (63-81)	57,5 (48-66)	FGF-básico > 1.4	0.61	59,6 (49-68)	66,9 (57-75)	IL-6 > 0,4	0.60	44,7 (34-55)	76,1 (67-83)
TNF-α > 6,5	0.66	76,7 (67-83)	51,8 (42-61)	IL-2 > 0,7	0.60	62,6 (52-71)	61,3 (51-70)	IL-15 > 65,5	0.60	50,5 (40-60)	75,4 (66-82)
IL-10 > 0,5	0.65	87,3 (79-92)	43,0 (34-52)	IL-1β > 0,2	0.60	43,4 (34-53)	76,4 (67-83)	G-CSF > 15.3	0.60	47,6 (37-58)	73,5 (64-81)
IL-4 > 1,2	0.65	49,4 (39-59)	76,4 (67-83)	CXCL10 > 24,5	0.59	65,3 (55-73)	51,8 (42-61)	CXCL10 > 29.1	0.58	54,6 (44-64)	63,2 (53-71)
IL-1β > 0,2	0.64	58,5 (48-67)	66,0 (56-74)	IL-13 > 0,7	0.57	56,1 (46-65)	64,1 (54-72)	IL-4 > 0,7	0.58	74,4 (64-82)	41,5 (32-51)
FGF-básico > 1.3	0.64	80,8 (71-87)	47,1 (37-56)	CCL3 > 1,5	0.56	74,7 (65-82)	38,6 (29-48)	CCL11 > 10.7	0.57	59,3 (48-69)	56,6 (47-65)
G-CSF > 13,8	0.63	54,0 (44-63)	67,9 (58-76)	G-CSF > 8.4	0.56	76,7 (67-83)	37,7 (29-47)	FGF-básico > 1.5	0.56	44,1 (34-54)	75,4 (66-82)
IL-6 > 0,2	0.62	75,0 (65-82)	45,7 (36-55)	IL-6 > 0,4	0.55	42,4 (33-52)	73,3 (64-80)	CCL3 > 1.9	0.56	62,3 (51-71)	56,6 (47-65)
IL-12 > 0,7	0.61	70,5 (60-78)	53,3 (43-62)	CCL5 > 621	0.54	40,4 (31-50)	77,3 (68-84)	IL-7 > 2,9	0.56	78,5 (68-85)	34,6 (26-44)
CCL11 > 12.7	0.61	57,5 (47-66)	67,9 (58-76)	IL-4 > 0,9	0.54	53,5 (43-63)	57,5 (48-66)	IL-10 > 0,9	0.54	38,5 (28-49)	74,0 (64-81)
IL-2 > 0,8	0.61	63,6 (53-72)	62,2 (52-70)	CCL2 > 9.4	0.54	62,6 (52-71)	48,1 (38-57)	IFN-γ < 0,7	0.54	50,0 (39-60)	64,1 (54-72)
IL-9 > 21,4	0.61	43,8 (34-53)	80,1 (71-86)	IL-12 > 0,7	0.54	65,2 (55-74)	48,5 (39-58)	IL-1b > 0,2	0.54	65,1 (54-74)	47,1 (37-56)
CCL3 > 1,5	0.60	78,7 (69-85)	41,5 (32-51)	IL-10 > 0,5	0.54	69,0 (59-77)	43,2 (34-52)	CCL4 > 20,5	0.54	46,5 (36-56)	68,8 (59-76)
CXCL10 > 20.0	0.58	72,7 (63-80)	43,4 (34-52)	PDGF < 395	0.53	63,6 (53-72)	52,8 (43-62)	IL-9 > 23,2	0.54	30,2 (21-40)	86,7 (79-91)
IL-1Ra > 120	0.57	63,6 (53-72)	52,8 (43-62)	IL-9 > 23,3	0.53	24,2 (16-33)	86,7 (79-91)	IL-2 > 0,8	0.53	52,3 (41-62)	62,2 (52-70)
CCL4 > 19.8	0.55	48,4 (38-58)	66,0 (56-74)	CCL11 > 12.6	0.53	50,5 (40-60)	67,9 (58-76)	IL-12 > 0,7	0.53	61,2 (50-71)	48,5 (39-58)
IFN-γ > 2.0	0.55	19,5 (12-28)	95,2 (89-97)	IL-7 > 4,9	0.53	37,5 (28-47)	72,1 (62-79)	CCL5 > 734	0.52	24,7 (16-34)	87,7 (80-92)
IL-7 > 4,9	0.55	42,5 (33-52)	72,1 (62-79)	IFN-γ > 1,0	0.51	43,4 (34-53)	66,0 (56-74)	PDGF > 275	0.51	73,2 (63-81)	35,8 (27-45)
CXCL8 > 2.8	0.55	83,1 (74-89)	30,1 (22-39)	CXCL8 > 2,9	0.51	75,5 (66-82)	31,1 (23-40)	IL-1Ra < 165	0.51	73,2 (63-81)	33,9 (25-43)
PDGF > 187	0.53	87,8 (80-92)	23,5 (16-32)	IL-1Ra > 121	0.51	54,5 (44-64)	53,7 (44-62)	CCL2 < 18.0	0.50	77,9 (68-85)	29,0 (21-38)
CCL5 > 765	0.53	29,5 (21-39)	89,6 (82-94)	CCL4 > 7.4	0.50	96,9 (91-99)	10,3 (5-17)	CXCL8 < 0,9	0.50	9,3 (4-17)	99,0 (94-99)

* COVID-19(-) = Diagnóstico prospectivo negativo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; COVID-19(+) = Diagnóstico positivo prospectivo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; O tempo decorrido antes do diagnóstico de COVID-19 foi classificado em: > 4 meses (mês), 4-16 meses e >16 meses; # Os valores de corte são expressos em pg/mL. AUC = Área sob a curva característica de operação do receptor (ROC); Se = Sensibilidade; Sp = Especificidade.

Tabela 5. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de acordo com o Desfecho Clínico após Diagnóstico Prospectivo de COVID-19 ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento*

COVID-19(+) Assintomático vs. Sintomático				COVID-19(+) Leve vs. Grave				Sintomas (< 4 semanas vs. ≥ 4 semanas)			
Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp
IL-7 > 1,2	0.65	95,9 (92-97)	30,7 (12-57)	IL-1Ra > 114	0.67	84,3 (68-93)	48,1 (41-55)	CCL2 < 9,1	0.57	45,4 (34-56)	71,2 (63-77)
IL-6 < 0,3	0.64	44,7 (38-51)	85,7 (60-97)	IFN- γ > 1.2	0.62	50,0 (33-66)	73,5 (66-79)	IL-1Ra > 84,3	0.55	84,4 (74-90)	29,8 (23-37)
IL-2 < 0,8	0.60	57,1 (50-63)	71,4 (45-88)	IL-6 > 0,3	0.62	81,2 (64-91)	41,5 (34-48)	IL-13 < 1,1	0.55	75,3 (64-83)	38,1 (30-46)
CCL2 < 25,0	0.59	81,6 (75-86)	42,8 (21-67)	CXCL8 > 5,2	0.60	59,3 (42-74)	62,1 (54-68)	IL-2 < 0,8	0.54	62,3 (51-72)	51,3 (43-59)
IFN- γ < 1,2	0.58	68,9 (62-74)	50,0 (26-73)	IL-13 < 0,6	0.60	53,1 (36-69)	72,2 (65-78)	GM-CSF > 0,6	0.54	29,8 (20-40)	80,9 (73-86)
IL-5 < 11,0	0.57	61,1 (54-67)	57,1 (32-78)	IL-12 < 0,4	0.57	22,5 (11-39)	94,2 (89-96)	IL-17 < 0,9	0.53	54,5 (43-65)	60,3 (52-67)
CXCL10 < 20,0	0.57	29,0 (23-35)	100 (78-100)	IL-4 < 1,0	0.56	65,6 (48-79)	49,7 (42-56)	IL-1 β < 0,3	0.52	79,2 (68-86)	29,2 (22-36)
GM-CSF < 0,3	0.57	33,6 (27-40)	85,7 (60-97)	PDGF < 286	0.56	56,2 (39-71)	65,9 (58-72)	CCL4 > 20,5	0.52	45,4 (34-56)	66,8 (59-73)
IL-17 < 1,5	0.56	77,3 (71-82)	42,8 (21-67)	FGF-básico < 1,5	0.56	78,1 (61-88)	40,5 (33-47)	IL-4 < 0,9	0.51	57,1 (46-67)	52,6 (44-60)
IL-1 β < 0,2	0.55	48,7 (41-55)	71,4 (45-88)	IL-17 < 1,3	0.56	81,2 (64-91)	35,6 (29-42)	IL-9 > 8,5	0.51	96,1 (89-98)	12,9 (8-19)
IL-12 < 1,0	0.55	56,7 (49-63)	69,2 (42-87)	CCL5 < 406	0.56	62,5 (45-77)	62,3 (55-69)	CXCL10 > 13,0	0.51	93,5 (85-97)	16,2 (11-22)
IL-9 < 11,2	0.54	17,2 (12-23)	100 (78-100)	CCL3 > 1,6	0.56	84,3 (68-93)	36,2 (29-43)	CCL11 < 10,0	0.51	50,6 (39-61)	62,9 (55-70)
FGF-básico < 1,5	0.53	47,7 (41-54)	71,4 (45-88)	IL-2 < 0,7	0.55	43,7 (28-60)	71,8 (65-77)	IFN- γ > 0,9	0.51	49,3 (38-60)	59,0 (51-66)
PDGF < 195	0.53	20,2 (15-26)	100 (78-100)	CCL2 < 14,3	0.55	71,8 (54-84)	45,6 (38-52)	IL-10 < 0,9	0.51	71,0 (60-80)	38,9 (31-46)
CCL4 < 16,9	0.53	46,8 (40-53)	71,4 (45-88)	CCL11 < 6,8	0.54	40,6 (25-57)	71,8 (65-77)	IL-6 > 0,5	0.51	29,8 (20-40)	80,9 (73-86)
CXCL8 < 1,8	0.52	13,3 (9-18)	100 (78-100)	IL-9 < 27,8	0.53	96,8 (84-99)	15,6 (11-21)	FGF-básico < 1,5	0.51	67,5 (56-76)	40,9 (33-48)
CCL11 < 9,1	0.52	39,4 (32-46)	78,5 (52-92)	CCL4 < 20,9	0.53	78,1 (61-88)	36,7 (30-43)	IL-15 > 39,7	0.51	97,3 (90-99)	12,5 (8-18)
G-CSF < 6,9	0.52	12,8 (8-18)	100 (78-100)	IL-5 < 7,1	0.53	40,6 (25-57)	70,4 (63-76)	CCL3 < 2,3	0.51	63,6 (52-73)	48,0 (40-55)
IL-1Ra < 300	0.52	91,6 (87-94)	21,4 (7-47)	GM-CSF < 0,3	0.53	31,2 (17-48)	82,0 (75-86)	IL-5 < 11,0	0.50	63,6 (52-73)	46,0 (38-53)
IL-13 > 0,5	0.51	75,7 (69-81)	42,8 (21-67)	TNF- α < 4,2	0.52	21,8 (11-38)	91,8 (87-95)	TNF- α > 7,5	0.50	55,8 (44-66)	50,6 (42-58)
IL-15 < 61,1	0.51	41,7 (35-48)	71,4 (45-88)	IL-7 > 5,4	0.52	35,4 (21-53)	74,7 (67-80)	IL-7 < 4,7	0.50	65,3 (54-75)	42,5 (34-50)
IL-10 < 0,5	0.51	30,8 (24-37)	84,6 (57-97)	IL-15 < 48,5	0.51	31,2 (17-48)	80,1 (73-85)	IL-12 > 3,1	0.50	17,3 (10-27)	89,5 (83-93)
CCL3 > 2,1	0.51	51,2 (44-58)	64,2 (38-83)	G-CSF > 11,5	0.51	65,6 (48-79)	45,1 (38-52)	CCL5 > 775	0.50	27,6 (18-38)	81,0 (74-86)
CCL5 > 542	0.51	41,5 (35-48)	84,6 (57-97)	CXCL10 > 39,4	0.50	37,5 (22-54)	73,5 (66-79)	PDGF > 603	0.50	31,1 (21-42)	79,8 (72-85)
VEGF > 11,4	0.51	19,1 (14-25)	92,8 (68-99)	IL-10 > 2,1	0.50	23,3 (11-40)	88,4 (82-92)	G-CSF > 5,6	0.50	98,7 (93-99)	9,8 (6-15)
TNF- α > 7,8	0.50	47,7 (41-54)	71,4 (45-88)	IL-1 β < 0,2	0.50	71,8 (54-84)	40,0 (33-47)	VEGF < 10,5	0.50	80,0 (69-87)	26,9 (20-34)
IL-4 < 0,5	0.50	13,3 (9-18)	100 (78-100)	VEGF < 4,7	0.50	40,0 (24-57)	77,9 (71-83)	CXCL8 < 6,4	0.50	74,0 (63-82)	33,1 (26-40)

* COVID-19(-) = Diagnóstico prospectivo negativo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; COVID-19(+) = Diagnóstico positivo prospectivo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; O resultado da doença foi classificado como: assintomático e sintomático, leve e grave e duração dos sintomas < 4 semanas e ≥ 4 semanas; # Os valores de corte são expressos em pg/mL. AUC = Área sob a curva característica de operação do receptor (ROC); Se = Sensibilidade; Sp = Especificidade.

Tabela 6. Índices de Desempenho dos Mediadores Imunológicos Séricos de Profissionais Hospitalares Não Infectados por SARS-CoV-2 na Categorização dos Participantes de acordo com o Diagnóstico de COVID-19 em Diferentes Faixas Etárias ao Longo de 19 Meses de Acompanhamento*

COVID-19(+) vs. COVID-19(-) 23-35 anos				COVID-19(+) vs. COVID-19(-) 36-45 anos				COVID-19(+) vs. COVID-19(-) ≥46 anos			
Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp	Parâmetros Corte#	AUC	Se	Sp
VEGF < 5,7	0.76	73,0 (53-86)	69,8 (59-78)	GM-CSF < 0,3	0.69	77,2 (63-87)	57,8 (48-66)	VEGF < 10,2	0.62	93,9 (80-98)	40,5 (30-51)
GM-CSF < 0,4	0.72	82,7 (65-92)	59,0 (48-68)	CXCL10 < 29,0	0.66	77,2 (63-87)	50,4 (41-59)	IL-5 < 14,0	0.61	93,9 (80-98)	32,0 (22-43)
IL-15 < 61,2	0.72	75,8 (57-87)	67,8 (57-76)	IL-5 < 7,1	0.65	53,4 (38-67)	73,9 (65-81)	GM-CSF < 0,3	0.61	39,3 (24-56)	84,0 (74-90)
TNF-α < 6,7	0.71	65,5 (47-80)	72,7 (62-80)	IL-17 < 0,9	0.64	75,0 (60-85)	55,2 (46-64)	IL-1Ra < 197	0.59	93,9 (80-98)	28,9 (19-39)
IL-5 < 9,7	0.70	85,1 (67-94)	59,7 (49-69)	IL-15 < 65,5	0.63	79,5 (65-88)	52,6 (43-61)	IL-1β < 0,3	0.59	81,8 (65-91)	38,1 (28-49)
IL-17 < 0,8	0.69	75,8 (57-87)	64,7 (54-73)	IL-4 < 1,3	0.63	81,8 (68-90)	45,2 (36-54)	TNF-α < 7,4	0.58	69,7 (52-82)	52,6 (41-63)
FGF-básico < 1,2	0.69	62,0 (44-77)	77,5 (67-84)	IL-13 < 0,7	0.62	68,1 (53-80)	59,1 (49-67)	IL-17 < 1,0	0.57	69,7 (52-82)	50,0 (39-60)
IL-6 < 0,3	0.67	79,3 (61-90)	53,4 (43-63)	TNF-α < 7,6	0.61	70,4 (55-81)	54,7 (45-63)	IL-6 < 0,2	0.57	27,2 (15-44)	90,7 (82-95)
IL-4 < 0,7	0.66	65,5 (47-80)	66,2 (55-75)	FGF-básico < 1,3	0.61	50,0 (35-64)	78,2 (69-84)	IL-13 < 0,7	0.57	54,5 (37-70)	68,0 (56-77)
IL-2 < 0,8	0.65	68,9 (50-82)	67,4 (57-76)	CCL11 < 14,3	0.61	79,5 (65-88)	46,0 (37-55)	IL-15 < 85,1	0.56	90,9 (76-96)	28,0 (19-39)
G-CSF < 7,9	0.65	55,1 (37-71)	80,4 (70-87)	VEGF < 7,6	0.60	68,4 (52-80)	51,7 (42-60)	IFN-γ < 1,9	0.55	100 (89-100)	23,6 (15-34)
CCL3 < 1,3	0.64	51,7 (34-68)	76,4 (66-84)	IL-10 < 0,7	0.60	67,4 (52-79)	55,3 (46-64)	IL-7 < 4,8	0.54	63,6 (46-77)	47,9 (36-59)
IL-13 < 0,7	0.64	58,6 (40-74)	70,1 (59-78)	G-CSF < 9,7	0.59	50,0 (35-64)	66,9 (57-74)	CCL4 > 11,2	0.53	93,9 (80-98)	21,0 (13-31)
CCL4 < 24,5	0.64	100 (88-100)	26,9 (18-37)	CCL3 < 2,0	0.59	68,1 (53-80)	56,5 (47-65)	FGF-básico < 1,5	0.53	69,7 (52-82)	50,0 (39-60)
IL-1β < 0,2	0.64	65,5 (47-80)	66,0 (55-75)	CCL2 < 9,8	0.58	52,2 (37-66)	65,2 (56-73)	IL-9 < 21,8	0.53	81,8 (65-91)	32,8 (23-44)
CCL2 < 17,8	0.62	75,8 (57-87)	45,4 (35-55)	IL-12 < 1,0	0.58	70,4 (55-81)	48,1 (39-57)	CXCL10 < 19,8	0.53	33,3 (19-50)	78,9 (68-86)
CCL11 < 11,6	0.62	79,3 (61-90)	48,3 (38-58)	IL-2 < 0,8	0.58	63,6 (48-76)	57,3 (48-66)	IL-2 < 1,1	0.52	90,9 (76-96)	27,6 (18-38)
IL-9 < 23,9	0.59	93,1 (78-98)	28,4 (20-38)	IL-1β < 0,2	0.57	63,6 (48-76)	52,1 (43-61)	CCL5 < 623	0.52	81,8 (65-91)	32,8 (23-44)
IL-7 < 4,6	0.59	89,2 (72-96)	44,5 (34-55)	CCL5 < 507	0.56	65,9 (51-78)	52,6 (43-61)	IL-12 < 1,6	0.52	84,3 (68-93)	27,4 (18-38)
IL-10 < 0,9	0.59	82,1 (64-92)	48,2 (38-58)	IL-9 < 23,2	0.56	90,9 (78-96)	28,7 (21-37)	IL-10 < 0,5	0.51	36,3 (22-53)	73,3 (62-82)
IL-12 < 0,7	0.57	51,7 (34-68)	69,5 (58-78)	IL-6 < 0,2	0.55	48,8 (34-63)	67,8 (58-75)	CXCL8 < 3,0	0.51	36,3 (22-53)	77,6 (67-85)
CXCL8 < 5,8	0.56	79,3 (61-90)	38,2 (28-48)	IL-7 < 2,9	0.53	39,5 (26-54)	73,6 (64-80)	G-CSF < 3,0	0.51	36,3 (22-53)	77,6 (67-85)
PDGF < 871	0.55	100 (88-100)	11,2 (6-19)	PDGF > 507	0.51	40,9 (27-55)	72,1 (63-79)	CCL3 < 1,1	0.50	15,1 (6-30)	96,0 (89-98)
CXCL10 < 24,9	0.53	58,6 (40-74)	60,6 (50-70)	CXCL8 < 19,0	0.51	100 (91-100)	6,9 (3-13)	CCL2 < 11,8	0.50	54,5 (37-70)	59,2 (47-69)
IL-1Ra < 110	0.50	51,7 (34-68)	59,5 (49-69)	IL-1Ra > 242	0.50	18,1 (9-31)	89,5 (82-93)	CCL11 < 11,1	0.50	48,4 (32-64)	67,1 (55-76)
CCL5 < 739	0.50	89,6 (73-96)	29,5 (21-39)	IFN-γ > 0,5	0.50	86,3 (73-93)	26,0 (18-34)	PDGF > 395	0.50	63,6 (46-77)	44,7 (34-55)
IFN-γ < 0,4	0.50	20,6 (9-38)	91,0 (83-95)	CCL4 < 8,5	0.50	13,6 (6-26)	94,7 (89-97)	IL-4 > 0,5	0.50	96,9 (84-99)	11,8 (6-21)

* COVID-19(-) = Diagnóstico prospectivo negativo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; COVID-19(+) = Diagnóstico positivo prospectivo de COVID-19 em um acompanhamento de 19 meses; As faixas etárias foram classificadas em: 23-35 anos (yo), 36-45 yo e ≥46 yo; # Os valores de corte são expressos em pg/mL. AUC = Área sob a Curva Característica de Operação do Receptor (ROC); Se = Sensibilidade; Sp = Especificidade.

Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação do diagnóstico prospectivo de COVID-19 e desfechos clínicos

A Figura 8 apresenta as análises das curvas ROC, avaliando o desempenho diagnóstico das categorias de mediadores imunológicos séricos (quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, citocinas reguladoras e fatores de crescimento) na discriminação entre diversos subgrupos clínicos relacionados aos desfechos da COVID-19.

Entre as classes de mediadores, os fatores de crescimento (AUC = 0,58) e as quimiocinas (AUC = 0,57) demonstraram maior poder discriminatório para prever o diagnóstico futuro de COVID-19.

Quando estratificados pelo tempo decorrido entre a linha de base e a infecção (<4, 4–16 e >16 meses), as citocinas reguladoras apresentaram o melhor desempenho nos grupos <4 e 4–16 meses (AUC = 0,67 e 0,63, respectivamente). As citocinas pró-inflamatórias tiveram melhor desempenho no grupo >16 meses.

As quimiocinas (AUC = 0,66) e as citocinas pró-inflamatórias (AUC = 0,62) mostraram acurácia moderada na distinção entre casos assintomáticos e sintomáticos. As citocinas reguladoras e os fatores de crescimento apresentaram poder discriminativo limitado (AUC = 0,52 para ambas).

Na diferenciação entre casos leves e graves de COVID-19, as citocinas reguladoras (AUC = 0,64) e os fatores de crescimento (AUC = 0,60) exibiram o melhor desempenho. As quimiocinas e as citocinas pró-inflamatórias apresentaram AUCs inferiores (0,54 e 0,56, respectivamente).

Na análise da persistência dos sintomas, todas as categorias de mediadores apresentaram capacidade preditiva limitada (AUCs variando de 0,51 a 0,56).

Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação de subgrupos de indivíduos segundo o diagnóstico, o tempo da coleta da amostra até o diagnóstico, os desfechos de COVID-19 e as faixas etárias

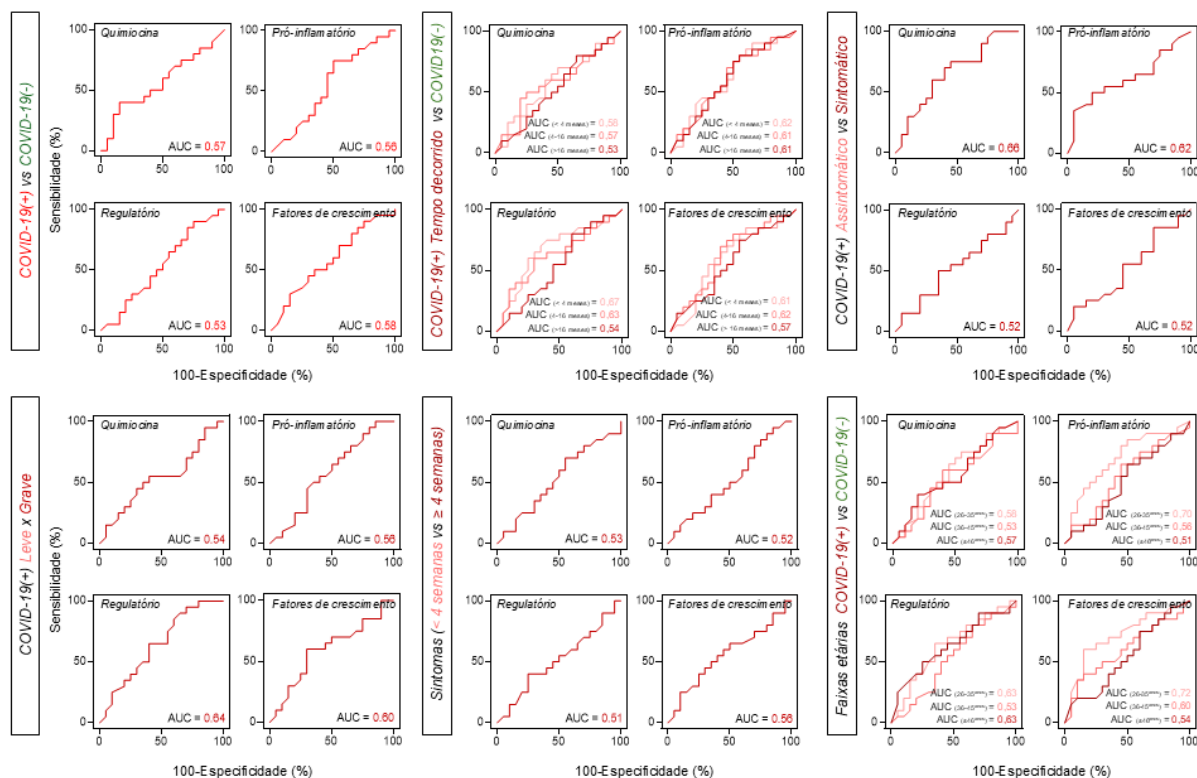


Figura 8. Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação de subgrupos de indivíduos segundo o diagnóstico, o tempo da coleta da amostra até o diagnóstico, os desfechos de COVID-19 e as faixas etárias. O desempenho discriminatório das categorias de mediadores séricos foi avaliado em funcionários hospitalares inicialmente não infectados pelo SARS-CoV-2, acompanhados por até 19 meses. A acurácia foi analisada por curvas ROC, utilizando a área sob a curva (AUC) como métrica principal, em que valores mais elevados indicam maior capacidade discriminatória. As categorias avaliadas incluíram quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, citocinas reguladoras e fatores de crescimento, analisadas de forma independente a partir das concentrações séricas agregadas. As comparações contemplaram: COVID-19 (-) (●, n = 106) vs. COVID-19 (+) (●, n = 280); tempo decorrido entre a coleta da amostra e a infecção < 4 meses (●, n = 95); 4-16 meses (●, n = 99) e > 16 meses (●, n = 86); assintomáticos (●, n = 14) vs. sintomáticos (●, n = 203) COVID-19 (+); sintomas leves (●, n = 185) vs. graves (●, n = 32) entre indivíduos com COVID-19 (+); Duração dos sintomas > 4 semanas (●, n = 154) e duração dos sintomas ≤ 4 semanas (●, n = 77); e estratificação por faixa etária: 23-35 anos [COVID-19 (-) (●, n = 29) vs. COVID-19 (+) (●, n = 89)]; 36-45 anos [(COVID-19 (-) (●, n = 44) vs. COVID-19 (+) (●, n = 115)]; e ≥ 46 anos [COVID-19 (-) (●, n = 33) vs. COVID-19 (+) (●, n = 66)]. Os valores de AUC são relatados em cada painel para resumir o desempenho de classificação de cada categoria de mediador imunológico dentro do respectivo contexto clínico.

Análise multivariada dos principais mediadores imunológicos solúveis preditivos da infecção prospectiva por COVID-19 e dos desfechos clínicos

Para investigar o valor discriminativo de cada mediador imune solúvel na predição do diagnóstico de COVID-19 e de seus desfechos clínicos, foram conduzidas análises multivariadas utilizando tanto os níveis absolutos quanto escores compostos derivados das concentrações basais.

Na comparação geral entre participantes COVID-19 negativos [COVID-19 (-)] e positivos [COVID-19 (+)], os níveis basais de GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α encontraram-se significativamente elevados entre aqueles que desenvolveram COVID-19 (FIGURA 9A). O modelo multivariado apresentou uma área sob a curva (AUC) de 0,70, com sensibilidade de 49% e especificidade de 81%, identificando um ponto de corte de 2,5 que permitiu estratificar de forma eficaz os indivíduos com diagnóstico futuro de COVID-19.

Na comparação entre os subgrupos assintomáticos e sintomáticos entre os participantes COVID-19 (+), observaram-se escores mais elevados de IL-12, IL-10, G-CSF e IL-7 nos indivíduos sintomáticos (FIGURA 9B). O modelo multivariado obteve AUC = 0,75, com sensibilidade de 56% e especificidade de 86% para o ponto de corte ótimo de 1,5, indicando poder preditivo moderado para a conversão sintomática.

Considerando a gravidade clínica do quadro, os níveis basais de IL-1 β , IL-1Ra, IL-13, FGF básico e G-CSF estavam aumentados entre os participantes que evoluíram para formas graves da doença (FIGURA 9C). O escore composto apresentou AUC = 0,71, com sensibilidade de 53% e especificidade de 80%, indicando um perfil inflamatório basal distinto nos casos graves de COVID-19.

Por fim, os níveis de CCL2, IL-15, IL-10 e G-CSF foram mais elevados nos indivíduos com sintomas persistentes por ≥ 4 semanas (FIGURA 9D). O modelo multivariado resultou em AUC = 0,64, com sensibilidade de 48% e especificidade de 74%, considerando o ponto de corte de 2,5.

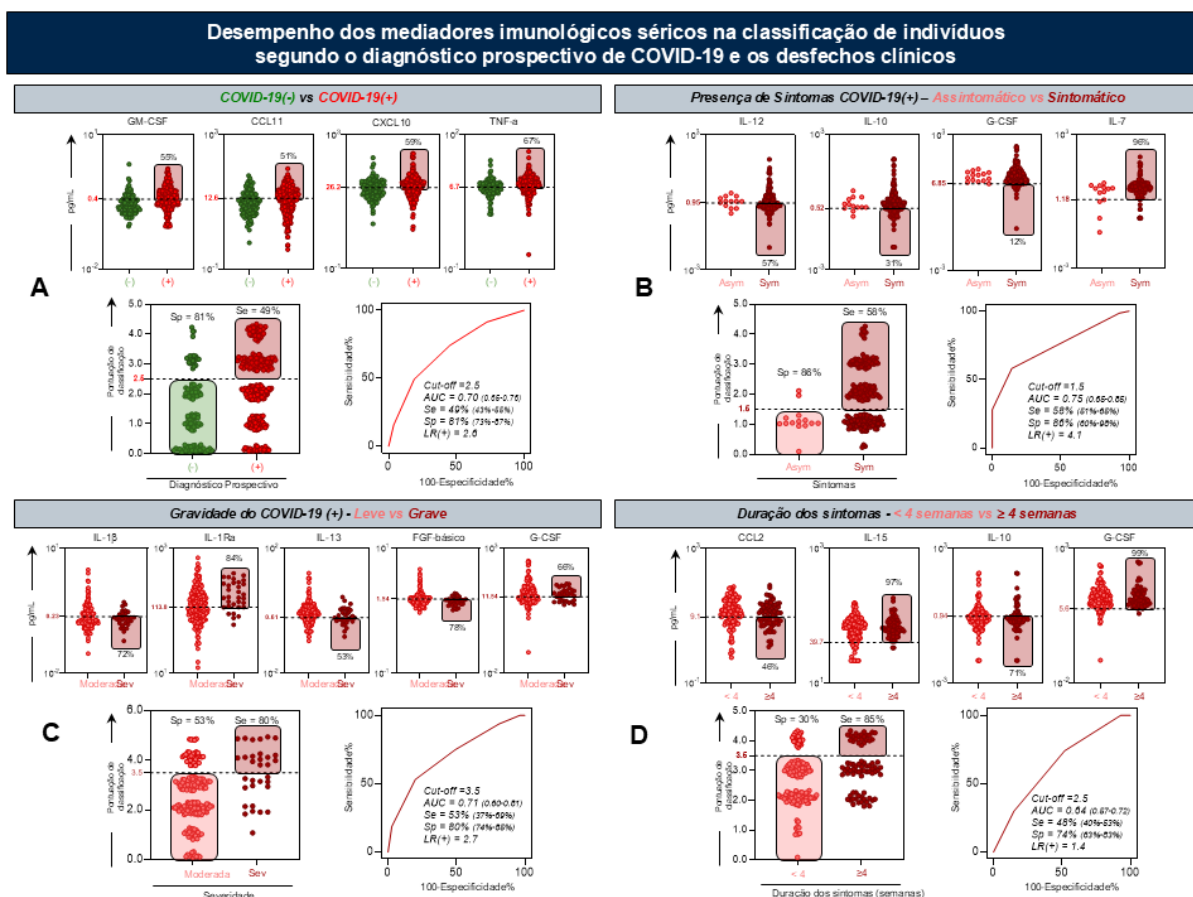


Figura 9. Desempenho dos mediadores imunológicos séricos na classificação de indivíduos segundo o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos. Foram avaliados os mediadores imunológicos séricos de funcionários do hospital inicialmente não infectados pelo SARS-CoV-2, acompanhados por até 19 meses, quanto à sua capacidade de classificar os indivíduos de acordo com: (A) diagnóstico prospectivo de COVID-19 [COVID-19 (-) (●) vs. COVID-19 (+) (●)]; (B) presença de sintomas [assintomático (●) vs. sintomático (●)]; (C) gravidade clínica [leve (●) vs. grave (●)]; e (D) duração dos sintomas [< 4 semanas (●) vs. ≥ 4 semanas (●)]. Os gráficos de dispersão apresentam os valores individuais de cada mediador, enquanto as curvas ROC ilustram seu desempenho discriminativo. São exibidos os índices de desempenho — área sob a curva (AUC), sensibilidade (Se), especificidade (Sp) e razão de verossimilhança (LR) — bem como os pontos de corte definidos para cada mediador solúvel, conforme descrito na seção de Materiais e Métodos.

Algoritmo de árvore de decisão dos mediadores imunológicos solúveis para classificar o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos

Com o objetivo de identificar assinaturas imunológicas preditivas da infecção por SARS-CoV-2 e dos desfechos clínicos da COVID-19, foram desenvolvidos algoritmos de árvore de decisão (FIGURA 10), a partir das análises multivariadas (FIGURA 9), utilizando os níveis basais de mediadores imunológicos solúveis de funcionários hospitalares inicialmente não infectados, com seguimento de até 19 meses. Os modelos foram treinados para classificar os participantes quanto ao

diagnóstico prospectivo de COVID-19, presença de sintomas, gravidade da doença e duração dos sintomas.

A acurácia geral do modelo para predição do diagnóstico de COVID-19 foi de 74% (FIGURA 10B), com acurácia de 93% para a presença de sintomas (FIGURA 10C), 87% para casos graves (FIGURA 10D) e 67% para duração de sintomas ≥ 4 semanas (FIGURA 10E).

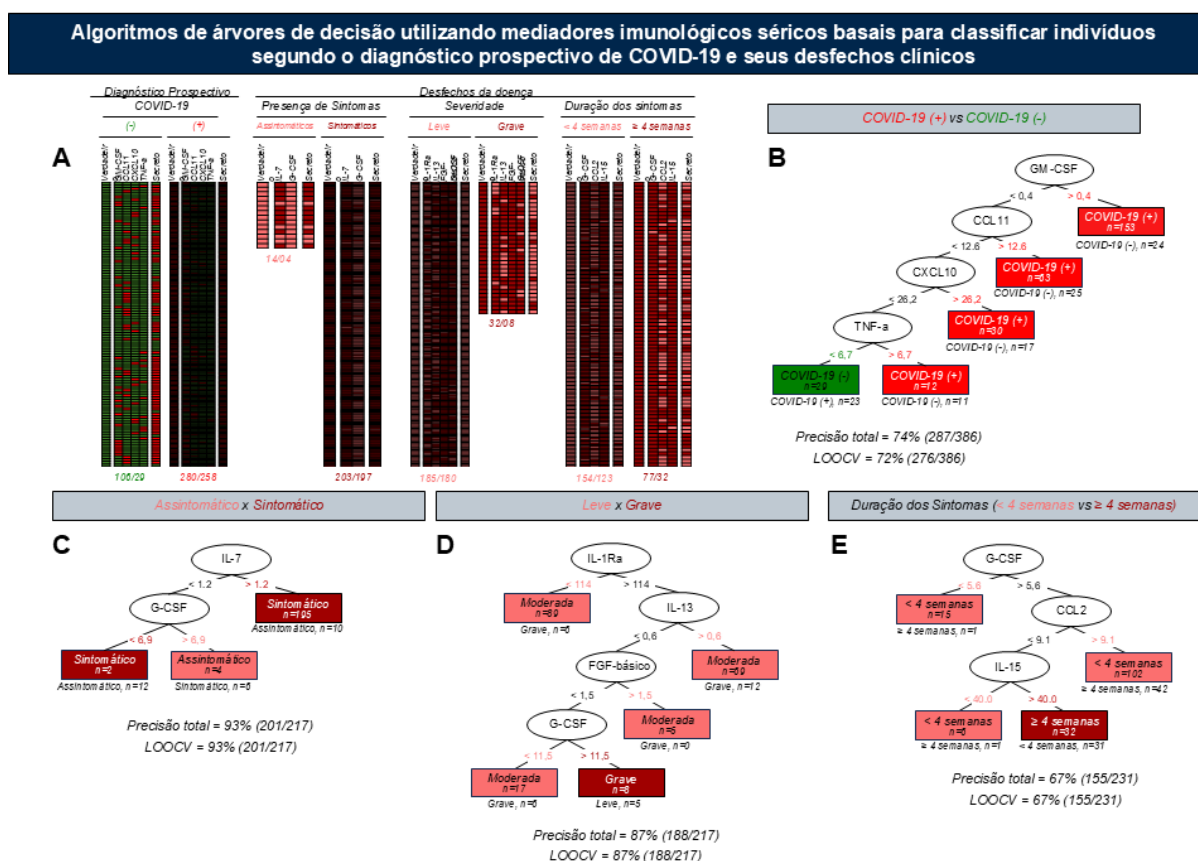


Figura 10. Algoritmos de árvores de decisão utilizando mediadores imunológicos séricos basais para classificar indivíduos segundo o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e seus desfechos clínicos. O quadro de classificação (A) apresenta a distribuição dos participantes entre os grupos de diagnóstico prospectivo e desfechos clínicos da doença, servindo como base comparativa para as análises. Árvores de decisão foram construídas para identificar os atributos-raiz mais relevantes na classificação dos participantes em: (B) COVID-19 (-) (●, n = 106) vs. COVID-19 (+) (●, n = 280); (C) assintomático (●, n = 106) vs. sintomático (●, n = 203); (D) leve (●, n = 185) vs. grave (●, n = 32); e (E) duração dos sintomas < 4 semanas (●, n = 154) e ≥ 4 semanas (●, n = 77). O desempenho de cada árvore foi validado por análise *leave-one-out cross-validation* (LOOCV), e a precisão total encontra-se indicada na figura.

Um modelo multivariado baseado nos níveis de GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α demonstrou ser eficaz para distinguir indivíduos que viriam a testar positivo para COVID-19 daqueles que permaneceram não infectados. Participantes com níveis elevados de GM-CSF ($>0,4$), CCL11 ($>12,6$), CXCL10 ($>26,2$) e TNF- α ($>6,7$) foram predominantemente classificados como COVID-19 (+), enquanto níveis reduzidos de TNF- α ($<6,7$) foram associados ao grupo COVID-19 (-). O modelo alcançou acurácia geral de 74% (287/386) e acurácia de 72% na validação cruzada leave-one-out (LOOCV).

Entre os indivíduos COVID-19 (+), os mediadores IL-7 e G-CSF foram os principais discriminadores entre formas sintomáticas e assintomáticas da doença. O nó raiz da árvore de decisão separou os participantes com base nos níveis de IL-7, utilizando o ponto de corte de 1,2 pg/mL. Participantes com níveis de IL-7 superiores a 1,2 pg/mL foram predominantemente sintomáticos ($n = 196$), com apenas 10 casos classificados como assintomáticos. Para aqueles com IL-7 $< 1,2$ pg/mL, o G-CSF foi a variável discriminatória subsequente. Quando os níveis de G-CSF estavam acima de 6,9 pg/mL, a maioria também foi classificada como sintomática. Em contrapartida, participantes com IL-7 $< 1,2$ pg/mL e G-CSF $< 6,9$ pg/mL foram majoritariamente assintomáticos. O modelo alcançou uma acurácia de 93% (201/217), com 93% de acurácia na validação cruzada leave-one-out (LOOCV), indicando uma assinatura imunológica altamente específica para a conversão sintomática.

IL-1Ra, IL-13, FGF-basic e G-CSF destacaram-se como mediadores-chave na predição de casos leves versus graves de COVID-19. O nó raiz do modelo foi definido pelos níveis de IL-1Ra: valores ≤ 114 pg/mL estiveram majoritariamente associados a quadros leves ($n = 89$), embora 6 indivíduos posteriormente tenham desenvolvido doença grave. Para níveis de IL-1Ra > 114 pg/mL, o IL-13 foi utilizado como classificador secundário. Níveis de IL-13 $> 0,6$ pg/mL foram vinculados a casos leves ($n = 69$), enquanto IL-13 $\leq 0,6$ direcionou a classificação adicional pelo FGF-basic. Dentro desse ramo, níveis de FGF-basic $\leq 1,5$ pg/mL combinados com G-CSF $\leq 11,5$ pg/mL identificaram exclusivamente casos leves ($n = 17$), ao passo que G-CSF $> 11,5$ pg/mL esteve associado a quadros graves ($n = 8$). Nenhum caso grave foi observado entre os indivíduos com FGF-basic $> 1,5$ pg/mL. Esse modelo baseado em árvore de decisão apresentou acurácia de 87% (188/217), com validação cruzada leave-one-out (LOOCV) igualmente de 87%.

Para prever a duração dos sintomas (<4 semanas vs. ≥4 semanas), G-CSF, CCL2 e IL-15 foram identificados como discriminadores relevantes. Indivíduos com níveis reduzidos de G-CSF (<5,6 pg/mL) apresentaram maior probabilidade de terem sintomas com duração inferior a 4 semanas. Esse modelo alcançou acurácia de 67% (155/231) e validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV) igualmente de 67%.

Os mapas de calor ilustram os padrões de distribuição dos mediadores imunológicos entre os diferentes grupos de classificação. Indivíduos COVID-19 (+), sintomáticos, com quadros graves ou com sintomas persistentes por ≥4 semanas apresentaram expressão aumentada de diversas citocinas e quimiocinas, corroborando sua seleção nos modelos baseados em árvores de decisão.

Perfis de mediadores imunológicos relacionados à idade preditivos do diagnóstico prospectivo de COVID-19

A Figura 11 apresenta análises estratificadas por idade, revelando perfis imunológicos distintos entre diferentes faixas etárias. Indivíduos mais jovens (23 a 35 anos) exibiram elevações significativas nos níveis de mediadores imunológicos em todas as categorias, quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, citocinas reguladoras e fatores de crescimento, entre os participantes COVID-19 positivos (COVID-19 (+)), conforme ilustrado nas assinaturas sobrepostas e nos gráficos de delta apresentados na Figura 12. Em contrapartida, entre indivíduos mais velhos (≥46 anos), as diferenças entre os grupos COVID-19 (+) e COVID-19 negativos (COVID-19 (-)) diminuíram progressivamente com o aumento da idade.

O desempenho preditivo também variou conforme a faixa etária, sendo mais expressivo no grupo de 23 a 35 anos, com as maiores áreas sob a curva (AUC) observadas para citocinas pró-inflamatórias (AUC = 0,70) e fatores de crescimento (AUC = 0,72), conforme demonstrado na Figura 8. A Tabela 6 apresenta os índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos de acordo com as faixas etárias.

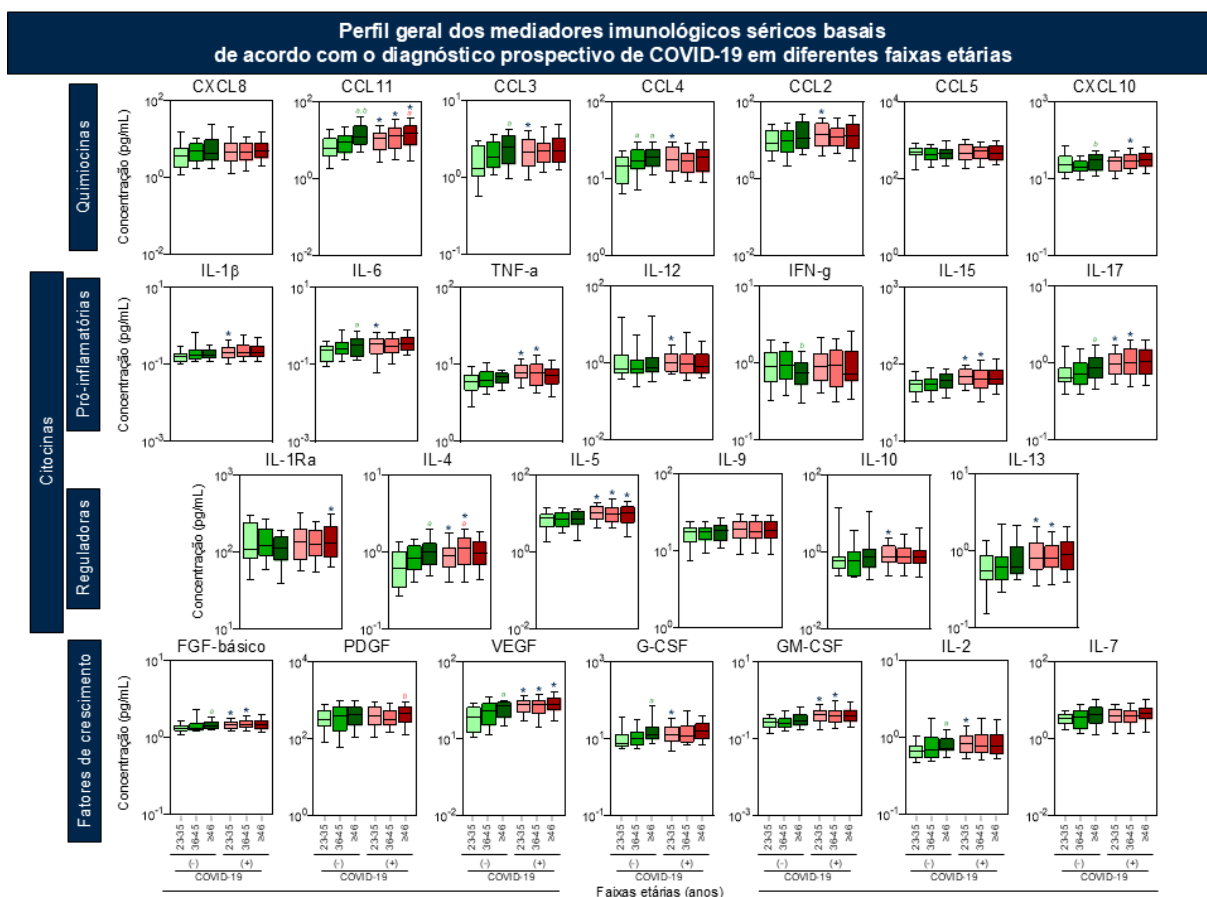


Figura 11. Perfil geral dos mediadores imunológicos séricos basais de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 em diferentes faixas etárias. Níveis de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento foram medidos em amostras de soro de funcionários hospitalares inicialmente não infectados, acompanhados por 19 meses e classificados em COVID-19 (-) (●, n = 106) e COVID-19 (+) (●, n = 280). Os participantes foram estratificados por faixa etária: 23–35 anos [COVID-19 (-), ●, n = 29; COVID-19 (+), ●, n = 89]; 36–45 anos [COVID-19 (-), ●, n = 44; COVID-19 (+), ●, n = 115]; e ≥ 46 anos [COVID-19 (-), ●, n = 33; COVID-19 (+), ●, n = 66]. As dosagens foram realizadas na plataforma Luminex Bio-Plex, conforme descrito em Materiais e Métodos. As comparações entre grupos foram conduzidas pelo teste de Mann-Whitney. Os resultados são apresentados em box plots, representando valores medianos, intervalos interquartis, valores mínimos e máximos (pg/mL). Diferenças significativas ($p < 0,05$) entre COVID-19 (-) e COVID-19 (+) são indicadas por asteriscos (*). Para comparações entre faixas etárias, letras “a” (verde, grupo COVID-19 [-]) e “b” (vermelho, grupo COVID-19 [+]) assinalam diferenças significativas ($p < 0,05$).

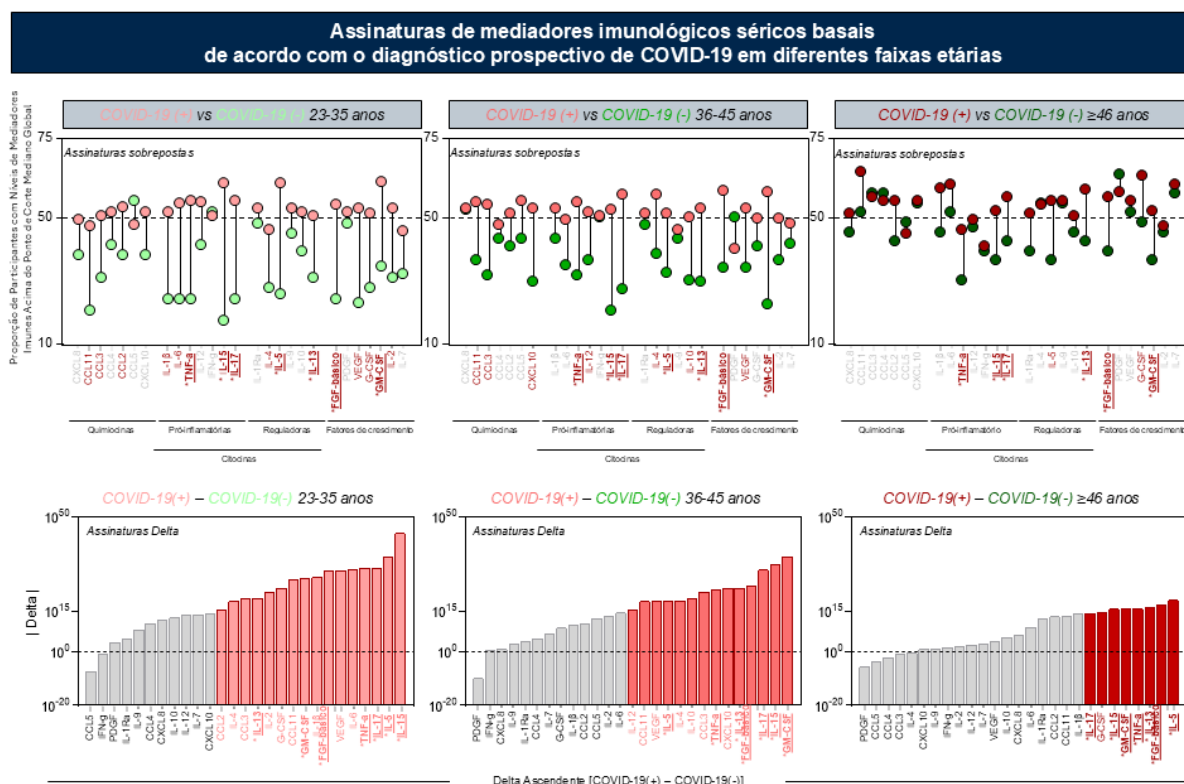


Figura 12. Assinaturas de mediadores imunológicos séricos basais de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 em diferentes faixas etárias. Foram avaliadas assinaturas sobrepostas e deltas ascendentes de quimiocinas, citocinas pró-inflamatórias, reguladoras e fatores de crescimento em funcionários hospitalares inicialmente não infectados, acompanhados por até 19 meses. Os grupos foram classificados em COVID-19 (-) (●, n = 106) e COVID-19 (+) (●, n = 280), estratificados por idade: 23–35 anos [COVID-19 (-), ●, n = 29; COVID-19 (+), ●, n = 89]; 36–45 anos [COVID-19 (-), ●, n = 44; COVID-19 (+), ●, n = 115]; e ≥ 46 anos [COVID-19 (-), ●, n = 33; COVID-19 (+), ●, n = 66]. Nos painéis superiores, apresenta-se a proporção (%) de indivíduos com níveis de mediadores acima do ponto de corte mediano global, sendo valores > 50% indicativos de alta produção. Nos painéis inferiores, os deltas representam as diferenças absolutas nas proporções entre COVID-19 (+) e COVID-19 (-), ordenadas de forma ascendente. Mediadores destacados em cores indicam diferenças significativas ($p < 0,05$); asteriscos (*) e sublinhados marcam aqueles com diferenças consistentes em todas as faixas etárias. Linhas tracejadas indicam os pontos de corte de referência.

DISCUSSÃO

DESCRIÇÃO DOS PARTICIPANTES

A prevalência de infecção por COVID-19 nesta coorte foi de 73%, percentual superior ao observado em inquéritos populacionais amplos, o que provavelmente reflete a maior exposição ocupacional e comunitária por se tratar de funcionários hospitalares, ainda que com funções distintas (assistenciais e administrativas) (PETRILLI et al., 2020).

A predominância do sexo feminino, tanto entre infectados (73%) quanto entre não infectados (75%), não se associou de forma significativa ao risco de infecção. Esse padrão pode refletir a composição majoritariamente feminina do quadro funcional hospitalar, e sugere que diferenças imunológicas relacionadas ao sexo, descritas em estudos prévios como associadas a respostas mais robustas em mulheres (REEVES; KOONER; ZHANG, 2022), não se traduziram em efeito diferencial na presente amostra.

A estratificação etária em tercís (23–35, 36–45 e ≥ 46 anos) permitiu comparações proporcionais entre subgrupos, sem revelar associação estatisticamente significativa entre idade e ocorrência de infecção, seja considerada como variável contínua ou categorizada. Ainda assim, a maior concentração de casos no grupo de jovens adultos (23–35 anos) é compatível com dados nacionais durante a segunda onda da pandemia, quando esse estrato etário apresentou maior incidência, hospitalizações e mortalidade, atribuídas sobretudo à maior mobilidade social e ao relaxamento das medidas preventivas (DE SOUZA et al., 2021).

O IMC apresentou valores médios semelhantes entre infectados e não infectados (25,4 vs. 25,2 kg/m²), sugerindo fraca relação com risco de infecção. Contudo, estudos de base populacional demonstram que obesidade está associada a maior risco de hospitalização e complicações (BOOTH et al., 2020), reforçando a importância de considerar o IMC principalmente na evolução clínica.

A análise principal não mostrou associação entre comorbidades e infecção; entretanto, todos os 49 casos sem informação sobre comorbidades pertenciam ao grupo positivo, revelando possível viés de informação. Esse achado reforça a

necessidade de coleta clínica padronizada e completa, pois a literatura demonstra de forma consistente que hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares aumentam o risco de complicações e mortalidade por COVID-19 (EJAZ et al., 2020; SSENTONGO et al., 2020).

Com relação à carga horária semanal, observou-se menor proporção de infecção entre indivíduos com jornada superior a 40 horas, achado divergente da literatura. Uma hipótese é que esses profissionais estivessem em ambientes mais controlados, com medidas rigorosas de proteção, reduzindo a exposição (NGUYEN et al., 2020).

O tempo até o diagnóstico variou de <4 a >16 meses, refletindo heterogeneidade de exposição. Embora definido por tercis, esse recorte coincidiu com fases epidemiológicas distintas: circulação de linhagens ancestrais no segundo semestre de 2020, predominância da Gamma e início da Delta no primeiro semestre de 2021, e transição Delta para Ômicron no final de 2021 (LEVI et al., 2021; GIOVANETTI et al., 2021; ALCÂNTARA et al., 2022; ALVES et al., 2022; ARANTES et al., 2023). A adesão vacinal praticamente universal provavelmente contribuiu para a redução da gravidade, sobretudo no período Delta–Ômicron. A limitação central dessa análise é a ausência de sequenciamento viral, impossibilitando a confirmação das variantes em cada caso. Estudos futuros devem integrar datas de infecção com vigilância genômica e ajustar por calendário vacinal e perfil ocupacional (MARTINS-FILHO et al., 2022; BANHO et al., 2024).

A maioria dos casos apresentou sintomas (73%), enquanto apenas 5% permaneceram assintomáticos, proporção semelhante à descrita em revisões sistemáticas (ORAN; TOPOL, 2021). O baixo número de assintomáticos pode refletir tanto o perfil ocupacional, com maior percepção de sintomas, quanto a definição clínica adotada. A ausência de informação em 22% da amostra limita a precisão das estimativas.

Para gravidade, optou-se por agrupar assintomáticos+leves versus moderados+graves, estratégia necessária para análises estatísticas em amostras com poucos casos graves (THEVARAJAN et al., 2020). A baixa frequência de quadros graves e a ausência de óbitos podem ser atribuídas ao perfil da população (profissionais de saúde em idade ativa) e à alta cobertura vacinal (JORDAN et al.,

2020; RANZANI et al., 2022). Ainda assim, dados ausentes em 23% dos participantes limitam a acurácia da classificação.

A persistência de sintomas por ≥ 4 semanas foi relatada em 27% dos casos, achado consistente com a literatura internacional, que aponta prevalências de 10% a 30% (GROFF et al., 2021; YUAN et al., 2023). Embora não seja possível caracterizar formalmente COVID longa devido à ausência de seguimento clínico estruturado, esse resultado sugere maior vulnerabilidade entre indivíduos mais velhos e com comorbidades, conforme apontado por estudos prévios.

ANÁLISE DOS BIOMARCADORES

Este estudo exploratório utilizou distintos modelos analíticos descritivos para caracterizar o perfil basal de mediadores imunológicos solúveis no soro de funcionários hospitalares com o objetivo de avaliar sua associação com o diagnóstico prospectivo de COVID-19, os desfechos clínicos e a possível influência da idade dos participantes. Os achados indicam que os níveis basais de determinados mediadores imunológicos, mensurados previamente à infecção, podem prever tanto a susceptibilidade à infecção por SARS-CoV-2 quanto a evolução clínica subsequente.

Perfil panorâmico de mediadores imunológicos solúveis associados ao diagnóstico prospectivo de COVID-19

A análise de 27 mediadores imunológicos séricos revelou que a maioria ($n = 20$) apresentou níveis basais circulantes mais elevados no grupo COVID-19 (+) em comparação ao grupo COVID-19 (–), abrangendo todas as classes de mediadores (FIGURA 2). Destacam-se, com os maiores *fold change*, os seguintes mediadores: GM-CSF, IL-5, VEGF, IL-13, CCL11 e IL-10 (FIGURA 4), com ênfase para as citocinas reguladoras, que exibiram os maiores incrementos. Os perfis sobrepostos das assinaturas imunológicas confirmaram a relevância desse conjunto de mediadores para a identificação prospectiva da infecção por COVID-19 (FIGURA 5).

A elevação basal de IL-10, IL-13 e IL-5 pode indicar um perfil imune disfuncional com polarização Th2, o que pode suprimir respostas antivirais do tipo Th1 e aumentar

a susceptibilidade à infecção (RUBBO; VAN DE PERRE; TUAILLON, 2012). Em apoio a essa hipótese, o ensaio STOIC identificou que uma resposta inicial atenuada de interferons, associada a uma inflamação exacerbada do tipo *T-helper 2* no trato respiratório após a infecção pelo SARS-CoV-2, poderia atuar como biomarcador preditivo para o desenvolvimento de formas graves da COVID-19 (BAKER, 2022). De modo semelhante, Majeed et al. (2023) relataram níveis significativamente elevados de IL-10 e IL-13 em pacientes com COVID-19 em comparação a controles saudáveis, com forte poder discriminativo. A IL-10 apresentou-se notavelmente elevada em casos graves e é reconhecida como um dos componentes centrais da tempestade de citocinas (MAJEED et al., 2023).

Esses achados ressaltam o potencial preditivo da desregulação imunológica basal, sugerindo que um estado imune distinto e pré-existente pode aumentar a susceptibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2. Além disso, reforçam o papel potencial de IL-5, IL-10 e IL-13 como biomarcadores preditivos da infecção por COVID-19. A monitorização desses mediadores imunológicos antes da infecção pode contribuir para a estratificação de risco e orientar intervenções precoces em indivíduos predispostos.

Perfil basal de mediadores imunológicos séricos segundo o intervalo entre a coleta da amostra e o diagnóstico de COVID-19

Este estudo também revelou que quanto maiores os níveis basais desses mediadores, menor foi o tempo até a infecção (FIGURA 3), sugerindo uma possível relação temporal entre ativação imunológica pré-existente e suscetibilidade à infecção. Os perfis sobrepostos das assinaturas imunológicas confirmaram a relevância desse conjunto de moléculas para o diagnóstico positivo de COVID-19 em curto intervalo de tempo após a coleta basal (FIGURA 5). Um achado particularmente relevante foi a maior magnitude de incremento, especialmente das citocinas reguladoras, no grupo que adquiriu COVID-19 mais precocemente.

Redes integrativas basais de mediadores imunológicos séricos de acordo com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e os desfechos clínicos

A análise de redes integrativas dos mediadores imunológicos revelou maior complexidade e interconectividade no subgrupo COVID-19 (+), sugerindo uma expressão coordenada mais ampla desses mediadores, particularmente entre aqueles que se infectaram em menor intervalo de tempo ou que desenvolveram sintomas (FIGURA 7). De fato, as análises baseadas em desfechos mostraram uma rede altamente interconectada entre os pacientes sintomáticos ($n = 556$ correlações), em comparação com o grupo assintomático ($n = 270$ correlações). Por outro lado, observou-se um número reduzido de agrupamentos (*clusters*) de mediadores imunológicos entre os pacientes que evoluíram com formas graves da doença ($n = 350$ correlações) e naqueles com sintomas persistentes por ≥ 4 semanas ($n = 386$ correlações), em contraste com os subgrupos com sintomas leves e duração inferior a 4 semanas ($n = 586$ e $n = 564$ correlações, respectivamente). Esses achados sugerem que redes mais complexas e interligadas estão associadas à maior suscetibilidade e apresentação sintomática da COVID-19, enquanto a redução da conectividade entre os mediadores pode estar relacionada a quadros graves ou de longa duração (FIGURA 7C).

A complexidade das redes imunológicas observada previamente à infecção parece estar mais relacionada à susceptibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2 e ao desenvolvimento da forma sintomática da doença, do que propriamente à gravidade clínica. Esse padrão é coerente com achados recentes da literatura, os quais demonstram que indivíduos que evoluem com COVID-19 sintomática frequentemente exibem redes imunológicas mais complexas e interconectadas, com aumento de citocinas pró-inflamatórias (IL-1 β , IL-6, TNF- α) e reguladoras (IL-10), sugerindo uma resposta imune amplamente ativada em indivíduos mais suscetíveis à manifestação clínica da infecção (GONDIM et al., 2023; RICCI et al., 2021).

Cass et al. (2024) demonstraram que redes imunológicas dominadas por interferons e quimiocinas estavam associadas a maior carga viral e sintomas respiratórios, enquanto uma rede de perfil mucoso, incluindo IL-33, IL-5 e CCL13, correlacionava-se com recuperação clínica mais rápida, sugerindo que uma resposta imune nasal eficaz pode ser determinante para o desfecho clínico em infecções virais

adquiridas na comunidade. Em outro estudo, os mesmos autores (CASS et al., 2023) relataram que a expressão elevada desses mediadores nasais estava associada a sintomas mais leves e menor tempo de recuperação, independentemente do tratamento instituído. Esses achados sustentam a hipótese de que uma maior interconectividade entre os mediadores imunológicos pode ser benéfica, desde que regulada de forma eficaz.

Em contraste, pacientes com formas graves da COVID-19 tendem a apresentar perfis imunológicos distintos, marcados por redução de linfócitos B imaturos e células T citotóxicas, indicando possível disfunção ou exaustão imunológica (SOVA et al., 2022). Da mesma forma, casos persistentes, como a COVID longa, mostram redes imunológicas menos organizadas, com conectividade funcional reduzida, diminuição de quimiocinas protetoras como CCL5 (RANTES) e aumento de mediadores anti-inflamatórios desregulados, como IL-1Ra e IL-10, refletindo falhas na modulação da resposta imune e possível exaustão funcional (ZHAO et al., 2020).

Estudos de análise de redes também demonstram que pacientes hospitalizados ou que evoluem a óbito apresentam redes imunológicas mais desequilibradas ou com menor centralidade, caracterizando uma resposta imune menos coordenada, frequentemente associada à gravidade clínica. Apesar disso, observam-se, paradoxalmente, maiores números absolutos de correlações entre mediadores nos casos mais graves (GONÇALVES et al., 2022; JARDIM-SANTOS et al., 2022). Esses achados sugerem que a conectividade das redes de mediadores imunológicos pode atuar como um marcador bifásico: elevada em indivíduos suscetíveis à infecção e à forma sintomática da doença, mas reduzida nos casos graves ou de longa duração. Esse padrão pode explicar a menor complexidade das redes observada em indivíduos com sintomas persistentes ou quadros severos, indicando um colapso funcional da regulação imune frente à progressão da doença.

Índices de desempenho das categorias de mediadores imunológicos séricos na classificação do diagnóstico prospectivo de COVID-19 e desfechos clínicos

A Figura 8 apresenta as curvas ROC que avaliam a acurácia preditiva das diferentes categorias de mediadores imunológicos séricos para classificar subgrupos

de indivíduos não infectados conforme o diagnóstico prospectivo de COVID-19 e suas características clínicas associadas. Dentre as classes de mediadores, os fatores de crescimento (AUC = 0,58) e as quimiocinas (AUC = 0,57) demonstraram o maior poder discriminatório para a previsão do diagnóstico futuro de COVID-19. Destaca-se também o bom desempenho das quimiocinas (AUC = 0,66) na distinção entre pacientes sintomáticos e assintomáticos, sugerindo a importância de vias quimiotáticas inflamatórias no desenvolvimento de sintomas.

Na discriminação entre formas leves e graves da COVID-19, as citocinas reguladoras (AUC = 0,64) e os fatores de crescimento (AUC = 0,60) apresentaram o melhor desempenho, indicando um possível papel dos mecanismos de regulação imune e reparo tecidual na progressão da doença. Por outro lado, na análise de persistência dos sintomas, todas as categorias de mediadores exibiram capacidade preditiva limitada (AUCs entre 0,51 e 0,56), sugerindo que sintomas persistentes podem não estar fortemente associados a grupos específicos de mediadores quando analisados de forma agregada.

Comparações estratificadas pelo tempo até o diagnóstico (<4 meses, 4–16 meses, >16 meses) e por faixas etárias revelaram desempenhos variáveis entre as categorias, com destaque para o maior AUC observado para citocinas pró-inflamatórias em indivíduos diagnosticados entre 4–16 meses (AUC = 0,62) e naqueles com menos de 30 anos de idade (AUC = 0,61). Esses achados sugerem que a relevância preditiva das diferentes classes de mediadores imunológicos pode variar conforme o momento de infecção e as características demográficas, apoiando seu uso em ferramentas de triagem adaptadas a subgrupos clínicos e populacionais específicos.

Até o momento, não há evidências robustas publicadas que confirmem a associação entre níveis elevados de mediadores imunológicos antes da infecção e a suscetibilidade ao SARS-CoV-2, com base em amostras coletadas no período pré-infeccioso. A maioria dos estudos disponíveis avaliou os níveis de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento no momento da admissão hospitalar ou após o início dos sintomas. Por exemplo, Gondim et al. (2023) analisaram pacientes com COVID-19 leve a moderada e encontraram níveis elevados de IL-1 β , MCP-3, TNF- α , IL-6 e IL-10 em comparação a controles saudáveis, porém as coletas foram realizadas

após o diagnóstico. De modo semelhante, Alfadda et al. (2023) relataram níveis elevados de IL-10, MCP-1 e VEGF na admissão hospitalar, com correlação com a gravidade da doença, mas sem avaliação prévia à infecção. Assim, embora a elevação precoce de mediadores imunológicos seja evidente na COVID-19, esses dados não estabelecem valor preditivo pré-infeccioso. Estudos longitudinais com amostras coletadas antes da pandemia ou antes da infecção são necessários para investigar rigorosamente essa hipótese.

Análise multivariada de mediadores imunológicos solúveis preditivos da infecção prospectiva por COVID-19 e seus desfechos clínicos

A análise das curvas ROC demonstrou que perfis imunológicos distintos estavam associados a diferentes desfechos clínicos, com poder discriminativo variável conforme os mediadores analisados. GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α (AUC: 0,70) foram eficazes em distinguir indivíduos que evoluíram para COVID-19 daqueles que permaneceram não infectados. IL-12, IL-10, G-CSF e IL-7 (AUC: 0,75) apresentaram melhor desempenho na diferenciação entre casos que seriam sintomáticos e assintomáticos, enquanto IL-1 β , IL-1Ra, IL-13, FGF-básico e G-CSF (AUC: 0,71) estiveram mais fortemente associados aos casos graves. Embora o desempenho preditivo tenha sido inferior, os níveis de CCL2, IL-15, IL-10 e G-CSF (AUC: 0,64) foram mais elevados entre indivíduos que apresentaram sintomas por ≥ 4 semanas (FIGURA 9).

De maneira geral, observou-se predominância de quimiocinas na distinção entre indivíduos que evoluíram para COVID-19, enquanto fatores de crescimento mostraram-se mais relevantes na diferenciação de quadros sintomáticos e na identificação de formas graves da doença. Esses achados sugerem que o estado imunológico basal pode influenciar o curso clínico da infecção por SARS-CoV-2, oferecendo potencial para estratégias precoces de estratificação de risco e intervenção personalizada. No entanto, não foi identificado um conjunto único de mediadores solúveis capaz de prever, simultaneamente, a presença de sintomas, a gravidade clínica e a persistência dos sintomas da COVID-19.

Curiosamente, os níveis de G-CSF mostraram associação mais consistente com quadros sintomáticos, formas graves da doença e duração prolongada dos sintomas. Níveis elevados de G-CSF têm sido sistematicamente relacionados a desfechos mais severos da COVID-19 e maior duração dos sintomas, especialmente em pacientes oncológicos e imunocomprometidos. Um estudo conduzido no Memorial Sloan Kettering Cancer Center demonstrou que a administração de G-CSF a pacientes com câncer hospitalizados por COVID-19 esteve associada a um risco significativamente aumentado de insuficiência respiratória e óbito, particularmente entre aqueles que apresentaram resposta hematológica intensa ao fator estimulador (ZHANG et al., 2022). Essa observação foi corroborada por uma análise crítica que propôs a reavaliação do uso de G-CSF no contexto da pandemia, sugerindo que sua administração pode precipitar respostas inflamatórias exacerbadas, culminando em tempestades de citocinas e falência respiratória (MALEK, 2021). Ademais, uma análise com 471 pacientes hospitalizados revelou que citocinas como o GM-CSF, intimamente relacionado ao G-CSF, estão entre os principais mediadores da inflamação grave na COVID-19, distinguindo-a de outras infecções virais como a influenza (THWAITES et al., 2021). Esses dados reforçam a hipótese de que o G-CSF não apenas reflete a gravidade da doença, mas também pode contribuir para sua intensificação, especialmente em subgrupos vulneráveis, sendo já elevado previamente à infecção em pacientes sintomáticos que evoluem com formas graves e de longa duração da COVID-19.

Algoritmo de árvore de decisão de mediadores imunológicos solúveis para classificar o diagnóstico prospectivo de COVID-19

Aprofundando essas observações, a análise multivariada e os algoritmos de árvore de decisão identificaram combinações específicas de mediadores imunológicos, GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α , capazes de prever o diagnóstico de COVID-19 com acurácia de 74% (Figura 10). Essa abordagem demonstra potencial promissor para o desenvolvimento de ferramentas de triagem voltadas à identificação de indivíduos de alto risco, especialmente em contextos de alta exposição, como ambientes hospitalares.

Atualmente, não há evidências robustas que sustentem o uso validado de GM-CSF, CCL11, CXCL10 ou TNF- α como biomarcadores preditivos da infecção por SARS-CoV-2 antes da exposição viral. A maior parte dos estudos disponíveis investiga esses mediadores no contexto do diagnóstico precoce da doença ou no monitoramento de sua gravidade, geralmente utilizando amostras coletadas após o início dos sintomas. Por exemplo, Tabassum et al. (2021) descrevem a possível utilidade de GM-CSF, CXCL10 e TNF- α na caracterização das respostas imunológicas iniciais à COVID-19, mas não exploram seu valor preditivo em amostras coletadas previamente à infecção para antecipar o risco de ocorrência da doença. De maneira análoga, Mittal et al. (2022) e Battaglini et al. (2022) identificam TNF- α e outras citocinas como marcadores de progressão e gravidade em contextos clínicos sintomáticos, sem, contudo, avaliar seu potencial na predição prospectiva da infecção. Assim, para validar a hipótese de que tais biomarcadores possam antecipar o risco de infecção, são necessários estudos longitudinais com coleta de amostras sanguíneas prévias à exposição, uma lacuna crítica ainda não suficientemente explorada na literatura atual.

Algoritmo de árvore de decisão de mediadores imunológicos solúveis para classificar desfechos clínicos

Para aprofundar a análise dos padrões preditivos identificados, foram desenvolvidas árvores de decisão baseadas nos desfechos clínicos (FIGURA 10), com o objetivo de classificar os participantes de acordo com suas apresentações clínicas. Perfis distintos de mediadores imunológicos, mensurados previamente à infecção por SARS-CoV-2, emergiram como discriminadores-chave para quatro desfechos de relevância clínica: presença de sintomas, gravidade da doença e duração prolongada dos sintomas (≥ 4 semanas).

Notavelmente, os mediadores GM-CSF, CCL11, CXCL10, TNF- α , IL-7, G-CSF, IL-1Ra, IL-13, FGF-básico, CCL2 e IL-15 figuraram com destaque nos modelos de árvore de decisão. Esses achados estão em consonância com a literatura e a expandem, uma vez que muitos desses mediadores, como IL-13 e CXCL10, já foram implicados como biomarcadores de gravidade em contextos pós-infecção (KAMALI et

al., 2022; LIU et al., 2020b), enquanto IL-15, CCL2 e G-CSF têm sido associados à sintomatologia prolongada (WANG et al., 2023; ESPÍN et al., 2023). Outros, como GM-CSF, TNF- α e IL-1Ra, têm sido propostos como indicadores diagnósticos ou prognósticos precoces durante as fases agudas da infecção (TABASSUM et al., 2021; DONLAN et al., 2021).

Entretanto, os achados do presente estudo são distintivos ao demonstrar que perfis imunológicos basais, ou seja, mensurados antes da infecção, já carregam valor preditivo para esses desfechos, sugerindo uma predisposição imunológica intrínseca capaz de modular não apenas a suscetibilidade à infecção, mas também a gravidade e a duração dos sintomas subsequentes. Esses resultados reforçam o conceito de um “*setpoint* imunológico” do hospedeiro, pré-existente à exposição viral, que molda a trajetória clínica da COVID-19, um mecanismo ainda pouco explorado na atual pesquisa de biomarcadores.

a) Presença de sintomas

Casos sintomáticos foram associados aos níveis de IL-7 e G-CSF (acurácia: 93%), sendo a IL-7 identificada como o principal determinante na distinção entre indivíduos sintomáticos e assintomáticos, enquanto o G-CSF atuou como classificador secundário entre aqueles com baixa expressão de IL-7. Embora a literatura atual não forneça evidências diretas de que IL-7 e G-CSF sejam biomarcadores preditivos da COVID-19 sintomática quando mensurados antes da infecção, diversos estudos apontam sua associação com a resposta imune em indivíduos sintomáticos no período pós-infeccioso.

Liu et al. (2020b) relataram que níveis plasmáticos elevados de IL-7 e G-CSF estavam significativamente correlacionados com a carga viral e lesão pulmonar em pacientes com COVID-19, indicando o envolvimento dessas citocinas na cascata inflamatória clínica. De modo semelhante, uma análise transcriptômica identificou o gene IL7R, que codifica o receptor da interleucina-7, como potencial candidato imunológico implicado na progressão da doença (WANG, 2023).

Em contraste com esses achados retrospectivos, nosso estudo demonstrou que os níveis pré-infecção de IL-7 e G-CSF foram os preditores mais influentes em

um modelo de árvore de decisão capaz de distinguir indivíduos que viriam a desenvolver COVID-19 sintomática. Esses achados sugerem que essas citocinas podem desempenhar um papel na predisposição imunológica à manifestação clínica da doença, oferecendo uma perspectiva inovadora ainda pouco explorada na literatura atual.

b) Gravidade da doença

A evolução para formas graves da COVID-19 foi associada a níveis basais elevados de IL-1Ra, IL-13, FGF-básico e G-CSF (acurácia: 87%). IL-1Ra e IL-13 apresentaram o maior valor prognóstico, enquanto FGF-básico e G-CSF contribuíram para a estratificação adicional. Embora a maioria dos estudos disponíveis avalie biomarcadores inflamatórios após a infecção por SARS-CoV-2, nossos achados reforçam a plausibilidade de que esses mediadores influenciem a trajetória clínica da doença.

A IL-1Ra, antagonista natural da IL-1, regula a inflamação sistêmica. Apesar desse papel, concentrações elevadas, em estudos pós-infecção, foram associadas a inflamação pulmonar exacerbada e maior risco de mortalidade (WANG, 2022; SAVITRI et al., 2023), sendo considerada um dos biomarcadores mais sensíveis de gravidade (ZHAO et al., 2020).

A IL-13, associada a respostas imunes do tipo Th2 e a processos fibróticos, desempenha papel central em doenças pulmonares inflamatórias e fibrosantes (PARISI; LEOSCO, 2020). Em estudos de randomização mendeliana, foi causalmente relacionada a formas graves de COVID-19, em que cada desvio padrão de aumento nos níveis séricos conferiu risco 20–23% maior de progressão (KAMALI et al., 2022).

O FGF-básico participa da proliferação celular, angiogênese e reparação tecidual. Em COVID-19, demonstrou valor preditivo quanto à necessidade de ventilação mecânica, sobretudo em combinação com IL-13 e IL-7 (DONLAN et al., 2021). Sua participação em mecanismos regenerativos sugere papel compensatório frente ao dano pulmonar (CODINA et al., 2021).

O G-CSF, responsável pela diferenciação e ativação de neutrófilos, embora menos estudado, tem sido implicado na progressão da doença, principalmente em cenários de tempestade de citocinas (CODINA et al., 2021).

Nosso estudo amplia esse arcabouço ao demonstrar que níveis pré-infecção de IL-1Ra, IL-13, FGF-básico e G-CSF foram preditores informativos em modelo de árvore de decisão capaz de classificar com precisão os indivíduos que evoluíram para formas graves. Em conjunto, esses achados sugerem que estados inflamatórios prévios e regulação imune basal modulam a trajetória clínica da COVID-19.

Esses resultados convergem com evidências de que indivíduos com alterações imunológicas prévias — como idosos e pessoas com comorbidades imunometabólicas — apresentam maior risco de hiperinflamação e síndrome do desconforto respiratório agudo (KOLOSSVÁRY et al., 2023). Tais dados reforçam o valor preditivo dos perfis de citocinas para estratificação de risco e intervenção precoce em populações vulneráveis.

Além disso, marcadores relacionados ao *inflammaging* e à obesidade, como IL-6, IL-12 e IL-1 β , já foram reconhecidos como preditores de desfechos adversos (BRODIN, 2021). Níveis aumentados de IL-6, TNF- α e, em menor grau, IL-8 e IL-1 β , também se associaram à gravidade clínica (DEL VALLE et al., 2020).

Kolossváry et al. (2023) demonstraram, de forma pioneira, que biomarcadores mensurados antes da infecção, incluindo granzimas A, B e H, aumentam o risco de formas moderadas a graves em pessoas vivendo com HIV. Além dos marcadores citotóxicos, mediadores inflamatórios como IL-6, TNF- α , IFN- γ e IL-10 também se correlacionaram a piores desfechos, configurando um padrão de ativação inflamatória com regulação compensatória. Essa perspectiva dialoga diretamente com nossos achados, sustentando a hipótese de que perfis imunológicos pré-existent modulam a suscetibilidade e a gravidade da COVID-19.

c) *Duração dos sintomas*

Adicionalmente, a duração prolongada dos sintomas (≥ 4 semanas) pôde ser classificada com acurácia moderada (67%) por meio de um modelo de árvore de decisão baseado nos níveis basais de G-CSF, CCL2 e IL-15. Embora a literatura atual

não ofereça evidências diretas de que G-CSF, CCL2 e IL-15 sejam biomarcadores validados para prever sintomas persistentes da COVID-19 quando mensurados antes da infecção, diversos estudos destacam a associação desses mediadores com disfunções imunológicas persistentes e sintomatologia prolongada nas fases pós-agudas da doença.

Por exemplo, CCL2 e IL-15 foram identificados entre 239 biomarcadores candidatos em uma revisão abrangente sobre COVID longa, sendo implicados em processos de inflamação sustentada e ativação de células imunológicas (ESPÍN et al., 2023). Da mesma forma, Wang et al. (2023) identificaram IL-15 como parte de uma assinatura multiômica capaz de prever com confiabilidade os fenótipos clínicos da COVID longa meses após a infecção. Tanto o CCL2 quanto o G-CSF têm sido repetidamente encontrados em níveis elevados em pacientes com sintomas persistentes, como observado em revisões sistemáticas (LAI et al., 2023).

Embora essas evidências se refiram majoritariamente à dinâmica de biomarcadores após a infecção, nosso estudo oferece uma contribuição inédita ao demonstrar que níveis basais (pré-infecção) de G-CSF, CCL2 e IL-15 foram os preditores mais informativos em um modelo de árvore de decisão que classificou indivíduos que evoluíram para sintomas persistentes da COVID-19 (≥ 4 semanas). Isso sugere que um ambiente imunológico preexistente pode predispor alguns indivíduos à sintomatologia pós-viral persistente, reforçando o potencial desses mediadores como marcadores precoces para COVID longa.

Concluindo, os limiares observados para esses mediadores imunológicos fornecem um possível arcabouço para a identificação precoce de indivíduos com maior risco de desfechos desfavoráveis relacionados à COVID-19. Nossos achados demonstram que os modelos de árvore de decisão baseados nos níveis basais de mediadores imunológicos séricos apresentaram desempenhos preditivos variados, conforme o desfecho clínico avaliado. Destaca-se que os modelos destinados a diferenciar indivíduos sintomáticos de assintomáticos, bem como aqueles que distinguiram casos leves de formas graves de COVID-19, apresentaram excelente capacidade preditiva, com acurácia de validação cruzada *leave-one-out* (LOOCV) de 93% e 87%, respectivamente. Esses valores elevados reforçam a robustez das assinaturas imunológicas identificadas (por exemplo, IL-7, G-CSF, IL-1Ra, IL-13 e

FGF-básico) na identificação de indivíduos mais propensos a desenvolver formas sintomáticas ou graves da doença antes mesmo da infecção.

Por outro lado, o modelo preditivo da duração prolongada dos sintomas (≥ 4 semanas) apresentou acurácia LOOCV mais modesta, de 67%, sugerindo uma maior heterogeneidade biológica e a possível participação de fatores não imunológicos nesse desfecho. Ainda assim, o modelo de predição do diagnóstico de COVID-19 demonstrou acurácia LOOCV satisfatória de 72%, o que é relevante, considerando a natureza multifatorial e complexa da aquisição do SARS-CoV-2.

Em conjunto, esses resultados ressaltam o valor do perfil imunológico basal como uma ferramenta promissora para estratificação de risco pré-infecção, com graus variados de confiabilidade conforme o desfecho clínico considerado. Esses achados demonstram que perfis imunológicos basais podem predizer, de forma robusta, o risco de infecção por COVID-19 e os desfechos clínicos associados, por meio de modelagem não linear. A elevada acurácia dos classificadores baseados em árvores de decisão, especialmente na predição de conversão sintomática e gravidade, sugere um forte potencial translacional para a identificação precoce de indivíduos em risco, utilizando biomarcadores imunológicos solúveis.

Perfis de mediadores imunológicos relacionados à idade preditivos do diagnóstico prospectivo de COVID-19

A análise estratificada por idade mostrou que indivíduos mais jovens (23–35 anos) apresentaram diferenças mais acentuadas nos níveis basais de mediadores imunológicos entre casos positivos e negativos para COVID-19, indicando maior poder discriminativo dos perfis preditivos nessa faixa etária. Com o avanço da idade, observou-se redução progressiva no número de mediadores significativos, nos valores de AUC e, consequentemente, na força preditiva do perfil basal. Ainda assim, alguns biomarcadores, como CCL11, IL-5 e VEGF, permaneceram consistentemente elevados nos indivíduos que desenvolveram COVID-19 em todas as faixas etárias, configurando uma assinatura estável independente da idade.

Esses achados podem ser interpretados à luz de processos fisiopatológicos próprios do envelhecimento. A imunossenescência, caracterizada pela perda da

capacidade de resposta a novos antígenos, e o *inflammaging*, definido como inflamação crônica de baixo grau, representam mecanismos centrais que reduzem a eficiência da resposta imune ao longo dos anos (BARTLESON et al., 2021; WITKOWSKI et al., 2022; ASGHARI et al., 2023). Isso ajuda a explicar por que adultos jovens exibem maior poder discriminativo nos perfis basais, enquanto nos idosos a predição torna-se menos precisa, possivelmente em razão da menor plasticidade imune.

Além disso, o conceito de imunobiografia, que descreve a trajetória única de estímulos imunológicos acumulados por cada indivíduo ao longo da vida, contribui para compreender a heterogeneidade das respostas observadas, mesmo entre pessoas da mesma idade cronológica (FRANCESCHI et al., 2017). Tal perspectiva reforça que a vulnerabilidade imunológica pode estar mais relacionada à idade biológica do que à idade cronológica, evidenciando que o risco de infecção e evolução clínica da COVID-19 resulta da interação entre envelhecimento, histórico imune e comorbidades.

Nesse contexto, nossos resultados confirmam que a idade modula o valor preditivo dos perfis imunológicos basais e destacam a relevância de incorporar essa variável nas estratégias de estratificação de risco para COVID-19, em especial no direcionamento de intervenções precoces em populações mais vulneráveis.

Contribuições Inovadoras e Potenciais Aplicações

Apesar das limitações, este estudo apresenta contribuições inéditas para o campo da imunologia aplicada à COVID-19, ao propor a hipótese de que perfis imunológicos séricos basais, anteriores à infecção e à vacinação, podem atuar como preditores da suscetibilidade e dos desfechos clínicos da doença. Trata-se de uma investigação pioneira, conduzida em uma população real de funcionários hospitalares acompanhada por 19 meses, o que permitiu integrar a exposição ocupacional ao contexto imunológico pré-existente.

A aplicação de modelos de decisão multivariados, com destaque para algoritmos de árvore de decisão, demonstrou desempenho relevante na predição de múltiplos desfechos (ocorrência da infecção, presença, gravidade e duração dos

sintomas), evidenciando a viabilidade de biomarcadores solúveis como ferramentas de estratificação de risco pré-exposição. Além disso, a análise integrada de mediadores imunológicos funcionais, englobando vias inflamatórias, regulatórias e de reparo tecidual, trouxe novas perspectivas sobre os mecanismos fisiopatológicos que antecedem a manifestação clínica da COVID-19.

Esses resultados consolidam os mediadores imunológicos como candidatos a biomarcadores preditivos e apontam para aplicações potenciais em estratégias personalizadas de triagem, prevenção e intervenção precoce, particularmente em ambientes de maior vulnerabilidade, como o hospitalar. Importante ressaltar que as diferenças imunológicas observadas entre os grupos não puderam ser explicadas por características clínicas ou demográficas de base, o que reforça a hipótese da existência de fatores imunológicos intrínsecos potencialmente preditivos da infecção.

Limitações

Algumas limitações devem ser consideradas para a adequada interpretação dos resultados. Em primeiro lugar, destaca-se o potencial viés de seleção. Apesar dos esforços de recrutamento, dificuldades operacionais comprometeram a adesão: ausência de dados de contato atualizados, falta de resposta às tentativas de comunicação e recusas motivadas por sobrecarga de trabalho durante a pandemia, desgaste diante da recorrência de convites e receio de fraudes. Esses fatores podem ter reduzido a representatividade da amostra e introduzido distorções na composição final dos participantes.

Outra limitação refere-se ao número reduzido de participantes em subgrupos específicos, como assintomáticos e casos graves, além da ausência de óbitos na coorte. Esse cenário exigiu a simplificação da classificação da gravidade clínica, restringindo a generalização dos achados para desfechos críticos, como necessidade de ventilação mecânica ou mortalidade.

Adicionalmente, não foi possível caracterizar formalmente a condição de COVID longa, em razão da ausência de seguimento clínico detalhado e de exames complementares necessários para atender aos critérios diagnósticos atualmente estabelecidos. Diante dessa limitação, optou-se por adotar a definição inicial proposta

pelo CDC, baseada na persistência de sintomas por ≥ 4 semanas após a fase aguda da infecção, o que restringe a abrangência desta análise.

Também merece destaque a questão da representatividade da população estudada. Embora a coorte tenha incluído funcionários hospitalares de diferentes áreas ocupacionais — assistência direta, setores administrativos e serviços de apoio —, ela pode não refletir plenamente a heterogeneidade imunológica da população geral. Além disso, informações relevantes, como comorbidades, uso de medicamentos, número de episódios de COVID-19 durante o seguimento e risco biológico associado à exposição ocupacional desigual (linha de frente vs. setores administrativos), foram coletadas, mas não incorporadas às análises estatísticas devido à complexidade adicional e às limitações de tempo e recursos.

Também se verificou a incompletude de alguns questionários clínicos e ocupacionais, atribuída a esquecimento, imprecisão no relato, recusa tácita em continuar o preenchimento ou dificuldade de contato posterior. Essa perda de dados restringiu a análise de covariáveis que poderiam ter enriquecido os modelos explicativos. Soma-se a isso o fato de que os dados sobre sintomas e sua duração foram autorreferidos, o que pode introduzir viés de memória.

Por fim, ressalta-se que os modelos preditivos foram construídos a partir de uma única coleta basal, impossibilitando a avaliação da dinâmica temporal dos mediadores imunológicos. Ademais, os algoritmos desenvolvidos ainda não passaram por validação em coortes externas, o que limita, no presente momento, sua aplicabilidade clínica imediata.

Sugestões para Pesquisas Futuras

Com base nos achados e limitações, investigações futuras devem priorizar a validação em populações maiores e mais heterogêneas, contemplando diferentes faixas etárias, grupos étnicos e contextos socioeconômicos, de modo a ampliar a generalização dos modelos preditivos aqui propostos. Além disso, torna-se essencial aprofundar o entendimento dos mecanismos biológicos que relacionam os perfis imunológicos basais à suscetibilidade ao SARS-CoV-2 e à variabilidade dos desfechos clínicos da COVID-19.

Estudos longitudinais com múltiplas coletas seriadas poderão esclarecer a estabilidade ou a modulação desses perfis frente a fatores como vacinação, reinfecção ou imunidade híbrida. A integração de variáveis clínicas, ambientais e genéticas poderá fortalecer os modelos preditivos e viabilizar ferramentas de estratificação de risco mais robustas. Finalmente, a validação externa dos algoritmos de decisão, em coortes independentes com dados pré-infecção, será um passo crucial para sua translação em estratégias clínicas e de saúde pública voltadas à prevenção e ao manejo precoce da COVID-19.

CONCLUSÃO

Este estudo, conduzido em condições de vida real, adotou uma abordagem inédita ao investigar o valor preditivo de perfis imunológicos séricos basais coletados em indivíduos ainda não infectados nem vacinados contra a COVID-19, buscando preencher uma lacuna crítica da literatura, na qual inexistem dados prévios específicos sobre esse contexto. O delineamento consistiu em uma coorte observacional prospectiva com única coleta basal de sangue, seguida do acompanhamento clínico dos participantes, o que possibilitou uma análise retrospectiva dos biomarcadores séricos em relação aos desfechos subsequentes. Essa estratégia singular permitiu identificar mediadores imunológicos associados tanto à suscetibilidade à infecção pelo SARS-CoV-2 quanto à evolução clínica da doença.

O objetivo primário foi caracterizar o perfil basal de mediadores imunológicos séricos em funcionários do Hospital Universitário de Brasília (HUB) e verificar sua associação com o diagnóstico prospectivo de COVID-19 ao longo de 19 meses de seguimento. Observou-se que 20 dos 27 mediadores analisados estavam aumentados entre aqueles que posteriormente desenvolveriam a doença, configurando assinaturas imunológicas distintas tanto na comparação entre infectados e não infectados quanto nos subgrupos estratificados pelo tempo até o diagnóstico. Perfis basais mais ativados mostraram-se associados não apenas a maior risco de infecção, mas também a uma progressão mais rápida para o diagnóstico, indicando que redes imunológicas prévias mais densas refletem uma ativação coordenada predisponente.

Os objetivos secundários complementaram esses resultados, acrescentando nuances relevantes sobre tempo até o diagnóstico, desfechos clínicos e influência da idade. Em relação ao intervalo de tempo até o diagnóstico, níveis basais mais elevados de determinados mediadores associaram-se a infecção mais precoce e, em alguns casos, mantiveram-se persistentemente altos, sugerindo susceptibilidade crônica. Quanto aos desfechos clínicos, redes pré-infecção mais densas caracterizaram indivíduos que evoluíram com sintomas, enquanto redes rarefeitas estiveram associadas a casos graves e a sintomas persistentes, sugerindo falhas na coordenação da resposta. Embora mediadores isolados ou categorias funcionais

tenham apresentado desempenho limitado, a aplicação de algoritmos de aprendizado de máquina permitiu identificar combinações multivariadas com alta acurácia para prever infecção, presença, gravidade e duração dos sintomas. Nesse cenário, as árvores de decisão hierarquizaram mediadores-chave — como GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α — em cortes objetivos e interpretáveis, reforçando o potencial desses perfis como ferramentas práticas de estratificação de risco.

Outro aspecto relevante foi a influência da idade. Nos participantes mais jovens, alguns mediadores já se encontravam elevados antes da infecção, enquanto o número de diferenças significativas entre os grupos diminuiu progressivamente com o envelhecimento. Esse padrão sugere que um estado inflamatório pré-existente, modulável pela imunossenescência e pela menor plasticidade imune, contribui para aumentar a suscetibilidade em jovens e reduzir a força discriminativa dos perfis basais em indivíduos mais velhos.

A análise combinada da magnitude do aumento dos mediadores imunológicos solúveis observados nos participantes que desenvolveram COVID-19 (GM-CSF, IL-5, VEGF, IL-13, CCL11 e IL-10) e das variáveis selecionadas nos algoritmos de árvore de decisão (GM-CSF, CCL11, CXCL10 e TNF- α) destacou GM-CSF e CCL11 como preditores centrais do diagnóstico prospectivo. A natureza multifuncional dos demais mediadores identificados sugere a participação de diferentes vias imunológicas relacionadas ao risco de infecção, ao momento do diagnóstico, à presença e gravidade dos sintomas, à duração da doença e às variações ligadas à faixa etária.

Os achados imunológicos desta pesquisa adquirem maior relevância ao serem interpretados à luz da ausência de diferenças significativas nas características clínicas e demográficas entre os grupos estudados (Tabela 2). Mesmo sem variações relevantes em fatores clássicos de risco, como idade, sexo, IMC ou comorbidades, o grupo que desenvolveu COVID-19 apresentou, já no início do acompanhamento, níveis basais elevados de diversos mediadores imunes. Essa observação sugere a presença de um estado inflamatório subclínico pré-existente, não explicado por variáveis convencionais, que pode ter contribuído para a maior susceptibilidade à infecção. Os resultados reforçam o potencial de perfis imunológicos basais como biomarcadores independentes de risco para COVID-19 e destacam a necessidade de

estudos futuros voltados à elucidação de mecanismos imunes precursores da infecção.

Trata-se, portanto, do primeiro estudo a acompanhar, durante 19 meses, uma coorte heterogênea de funcionários hospitalares — incluindo profissionais da assistência, administrativos e de apoio — com base em perfis imunológicos obtidos antes da infecção. Os resultados reforçam o papel de GM-CSF e CCL11 como preditores centrais e evidenciam a atuação integrada de mediadores multifuncionais em diferentes dimensões da COVID-19. Essa abordagem inovadora não apenas amplia a compreensão das assinaturas imunológicas que precedem a infecção, mas também oferece bases sólidas para o desenvolvimento de estratégias personalizadas de triagem, prevenção e intervenção precoce, com aplicabilidade potencial em cenários clínicos e de saúde pública. Embora alguns mediadores isolados já tenham demonstrado desempenho discriminativo relevante nas curvas ROC, a integração desses biomarcadores em modelos hierárquicos de árvore de decisão revelou de forma mais clara como interagem para classificar os indivíduos, aumentando a precisão e a aplicabilidade clínica das assinaturas imunológicas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDIMOMUNOVA, B.; ZHOLDOSHEV, S.** Clinical and immunological features of COVID-19 at different stages of the course of the disease. *Sanitarnyj Vrač*, n. 3, p. 146–152, 2023. DOI: <https://doi.org/10.33920/med-08-2303-02>.
- ACKERMANN, M.** et al. Pulmonary vascular endothelialitis, thrombosis, and angiogenesis in Covid-19. *New England Journal of Medicine*, v. 383, n. 2, p. 120–128, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2015432>
- AGUILAR-JIMÉNEZ, W.** et al. High expression of antiviral and vitamin D pathway genes are a natural characteristic of a small cohort of HIV-1-exposed seronegative individuals. *Frontiers in Immunology*, Lausanne, v. 8, p. 136, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00136>.
- ALCÂNTARA, L.** et al. SARS-CoV-2 epidemic in Brazil: how the displacement of variants has driven distinct epidemic waves. *Virus Research*, v. 315, p. 198785, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2022.198785>
- ALFADDA, A. A. et al.** Early cytokine signatures of hospitalized mild and severe COVID-19 patients: a prospective observational study. *Journal of Inflammation Research*, [S. l.], v. 16, p. 2631–2643, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2147/JIR.S408663>.
- ALIPOOR, S.; MIRSAEIDI, M.** SARS-CoV-2 cell entry beyond the ACE2 receptor. *Molecular Biology Reports*, [S. l.], v. 49, p. 10715–10727, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07700-x>
- AL-OBAIDI, M. M. J.; DESA, M. N. M.** A review of the mechanisms of blood-brain barrier disruption during COVID-19 infection. *Journal of Neuroscience Research*, v. 101, n. 11, p. 1687–1698, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/jnr.25232>.
- ALVES, H. J.** et al. Monitoring the Establishment of VOC Gamma in Minas Gerais, Brazil: A Retrospective Epidemiological and Genomic Surveillance Study. *Viruses*, v. 14, n. 12, p. 2747, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/v14122747>
- AO, Danyi** et al. SARS-CoV-2 Omicron variant: immune escape and vaccine development. *MedComm*, Hoboken, v. 3, e126, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/mco2.126>.
- APPAY, V.; ROWLAND-JONES, S. L.** RANTES: a versatile and controversial chemokine. *Trends in Immunology*, Cambridge, v. 22, n. 2, p. 83–87, 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1471-4906\(00\)01812-3](https://doi.org/10.1016/s1471-4906(00)01812-3).
- ARANTES, I.** et al. Comparative epidemic expansion of SARS-CoV-2 variants Delta and Omicron in the Brazilian State of Amazonas. *Nature Communications*, v. 14, n. 1, p. 2177, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37541-6>
- AREND, W. P.** The balance between IL-1 and IL-1Ra in disease. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, Oxford, v. 13, n. 4–5, p. 323–340, 2002. DOI: [https://doi.org/10.1016/s1359-6101\(02\)00020-5](https://doi.org/10.1016/s1359-6101(02)00020-5).
- ARUNACHALAM, P. S. et al.** Systems biological assessment of immunity to mild versus severe COVID-19 infection in humans. *Science*, Washington, v. 369, n. 6508, p. 1210–1220, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abc6261>.

ASGHARI, F. et al. Immunosenescence and Inflammaging in COVID-19. *Viral Immunology*, v. 36, n. 9, p. 579–592, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1089/vim.2023.0045>.

BAGGIOLINI, M.; CLARK-LEWIS, I. Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Letters*, Amsterdam, v. 307, n. 1, p. 97–101, 1992. DOI: [https://doi.org/10.1016/0014-5793\(92\)80909-Z](https://doi.org/10.1016/0014-5793(92)80909-Z).

BAKER, J. R. et al. Early Th2 inflammation in the upper respiratory mucosa as a predictor of severe COVID-19 and modulation by early treatment with inhaled corticosteroids: a mechanistic analysis. *The Lancet Respiratory Medicine*, London, v. 10, n. 6, p. 545–556, 2022. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(22\)00002-9](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(22)00002-9).

BAMIAS, G.; COMINELLI, F. Role of type 2 immunity in intestinal inflammation. *Current Opinion in Gastroenterology*, v. 31, n. 6, p. 471–476, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1097/MOG.0000000000000212>.

BANHO, C. A. et al. Dynamic clade transitions and the influence of vaccine rollout on the spatiotemporal circulation of SARS-CoV-2 variants in São Paulo, Brazil. *Research Square*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3788142/v1>

BANSAL, M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, Amsterdam, v. 14, p. 247–250, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.03.013>.

BARTLESON, J. M. et al. SARS-CoV-2, COVID-19 and the aging immune system. *Nature Aging*, [S. l.], v. 1, p. 769–782, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00114-7>.

BATCHU, S. N. et al. Lung and kidney ACE2 and TMPRSS2 in renin-angiotensin system blocker-treated comorbid diabetic mice mimicking host factors that have been linked to severe COVID-19. *Diabetes*, v. 70, n. 3, p. 759–771, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2337/db20-0765>

BEKLIZ, M. et al. Neutralization capacity of antibodies elicited through homologous or heterologous infection or vaccination against SARS-CoV-2 VOCs. *Nature Communications*, London, v. 13, n. 1, p. 3840, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-31556-1>.

BIOMARKERS DEFINITIONS WORKING GROUP. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, v. 69, n. 3, p. 89–95, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>.

BLANCO-MELO, D. et al. Imbalanced host response to SARS-CoV-2 drives development of COVID-19. *Cell*, v. 181, n. 5, p. 1036–1045.e9, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.026>

BOOTH, A. et al. Population risk factors for severe disease and mortality in COVID-19: A global systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, San Francisco, v. 16, n. 3, e0247461, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0247461>.

BOURGONJE, A. et al. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), SARS-CoV-2 and the pathophysiology of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *The Journal of Pathology*, v. 251, p. 228–248, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/path.5471>.

BOYMAN, O.; SPRENT, J. The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nature Reviews Immunology*, London, v. 12, p. 180–190, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri3156>.

BRODIN, P. Immune determinants of COVID-19 disease presentation and severity. *Nature Medicine*, New York, v. 27, p. 28–33, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-01202-8>.

BUNDERVOET, T.; DÁVALOS, M. E.; GARCIA, N. The short-term impacts of COVID-19 on households in developing countries: An overview based on a harmonized dataset of high-frequency surveys. *World Development*, v. 153, p. 105844, maio 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2022.105844>.

BUSZKO, M. et al. The dynamic changes in cytokine responses in COVID-19: a snapshot of the current state of knowledge. *Nature Immunology*, New York, v. 21, n. 10, p. 1146–1151, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0779-1>.

CASS, S. et al. Nodal analysis determined nasal mucosal-associated mediators were associated with accelerated clinical recovery from SARS-CoV-2 infection. *European Respiratory Journal*, v. 62, supl. 67, PA4586, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2023.pa4586>.]

CASS, S. P. et al. Coordinated nasal mucosa-mediated immunity accelerates recovery from COVID-19. *ERJ Open Research*, v. 10, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1183/23120541.00919-2023>.

CASTRO, P. et al. Is the endothelium the missing link in the pathophysiology and treatment of COVID-19 complications? *Cardiovascular Drugs and Therapy*, [S. l.], p. 1–14, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10557-021-07207-w>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Long COVID or post-COVID conditions. [S. l.], 2023. Disponível em: <https://archive.cdc.gov/www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/long-term-effects/index.html>. Acesso em: 30 jun. 2025.

CHAKRABORTY, I.; MAITY, P. COVID-19 outbreak: Migration, effects on society, global environment and prevention. *Science of the Total Environment*, v. 728, p. 138882, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138882>.

CHEN, G. et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019. *Journal of Clinical Investigation*, v. 130, n. 5, p. 2620–2629, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1172/JCI137244>.

CHEUNG, K. S. et al. Gastrointestinal manifestations of SARS-CoV-2 infection and virus load in fecal samples from a Hong Kong cohort: systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology*, v. 159, p. 81–95, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2020.03.065>.

CODINA, H. et al. Elevated anti-SARS-CoV-2 antibodies and IL-6, IL-8, MIP-1 β , early predictors of severe COVID-19. *Microorganisms*, v. 9, n. 11, p. 2259, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9112259>.

CORMAN, V. M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveillance*, v. 25, n. 3, p. 2000045, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>.

DE SOUZA, F. S. H. et al. Second wave of COVID-19 in Brazil: younger at higher risk. *European Journal of Epidemiology*, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 441–443, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10654-021-00750-8>.

DEL VALLE, D. M. et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine*, v. 26, n. 10, p. 1636–1643, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-1051-9>.

DEMETRI, G. D.; GRIFFIN, J. D. Granulocyte colony-stimulating factor and its receptor. *Blood*, v. 78, n. 11, p. 2791–2808, 1991. DOI: <https://doi.org/10.1182/blood.V78.11.2791.2791>.

DESHMANE, S. L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview. *Journal of Interferon & Cytokine Research*, v. 29, n. 6, p. 313–326, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1089/jir.2008.0027>.

DONG, M. et al. ACE2, TMPRSS2 distribution and extrapulmonary organ injury in patients with COVID-19. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, [S. l.], v. 131, p. 110678, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110678>.

DONLAN, A. N. et al. IL-13 is a driver of COVID-19 severity. *JCI Insight*, New York, v. 6, n. 15, e150107, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.150107>.

DUFOUR, J. H. et al. IFN- γ -inducible protein 10 (IP-10; CXCL10)-deficient mice reveal a role for IP-10 in effector T cell generation and trafficking. *Journal of Immunology*, v. 168, n. 7, p. 3195–3204, 2002. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.168.7.3195>.

EJAZ, H. et al. COVID-19 and comorbidities: Deleterious impact on infected patients. *Journal of Infection and Public Health*, v. 13, n. 12, p. 1833–1839, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.07.014>.

ESPÍN, E. et al. Cellular and molecular biomarkers of long COVID: a scoping review. *EBioMedicine*, v. 91, p. 104552, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104552>.

FARIA, Nuno R. et al. Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. *Science*, v. 372, n. 6544, p. 815–821, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abh2644>.

FEHNIGER, T. A.; CALIGIURI, M. A. Interleukin 15: biology and relevance to human disease. *Blood*, v. 97, n. 1, p. 14–32, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1182/blood.v97.1.14>.

FERRARA, N. Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress. *Endocrine Reviews*, v. 25, n. 4, p. 581–611, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1210/er.2003-0027>.

FRANCESCHI, C. et al. Immunobiography and the Heterogeneity of Immune Responses in the Elderly: A Focus on Inflammaging and Trained Immunity. *Frontiers in Immunology*, v. 8, p. 982, 2017. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00982>.

FRANKS, T. J. et al. Lung pathology of severe acute respiratory syndrome (SARS): a study of 8 autopsy cases from Singapore. *Human Pathology*, v. 34, n. 8, p. 743–748, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(03\)00367-8](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(03)00367-8).

FREEMAN, E. E. et al. The spectrum of COVID-19-associated dermatologic manifestations: an international registry of 716 patients from 31 countries. *Journal of the American Academy of Dermatology*, v. 83, n. 4, p. 1118–1129, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.06.1016>.

GARCIA-ZEPEDA, E. A. et al. Human eotaxin is a specific chemoattractant for eosinophil cells and provides a new mechanism to explain tissue eosinophilia. *Nature Medicine*, v. 2, n. 4, p. 449–456, abr. 1996. DOI: <https://doi.org/10.1038/nm0496-449>.

GARGAGLIONI, L. H.; MARQUES, D. A. Let's talk about sex in the context of COVID-19. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md.: 1985)*, v. 128, n. 6, p. 1533–1538, 2020. DOI: [10.1152/jappphysiol.00335.2020](https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00335.2020).

GIOVANETTI, M. et al. Replacement of the Gamma by the Delta variant in Brazil: Impact of lineage displacement on the ongoing pandemic. *Virus Evolution*, v. 8, n. 2, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/ve/veac024>

GONÇALVES, J. J. et al. Timeline kinetics of systemic and airway immune mediator storm for comprehensive analysis of disease outcome in critically ill COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 903903, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.903903>.

GONDIM, R. N. D. G. et al. Cytokines, chemokines, and cell growth factors in patients with mild to moderate SARS-CoV-2 infection: a case-control study. *Journal of Medical Virology*, v. 95, n. 8, e29044, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.29044>.

GROFF, D. et al. Short-term and long-term rates of postacute sequelae of SARS-CoV-2 infection: A systematic review. *JAMA Network Open*, v. 4, n. 10, e2128568, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.28568>.

GUPTA, A. et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine*, v. 26, n. 7, p. 1017–1032, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>.

HAN, H. et al. Profiling serum cytokines in COVID-19 patients reveals IL-6 and IL-10 are disease severity predictors. *Emerging Microbes & Infections*, v. 9, n. 1, p. 1123–1130, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1770129>.

HANLEY, B. et al. Histopathological findings and viral tropism in UK patients with severe fatal COVID-19: a post-mortem study. *The Lancet. Microbe*, v. 1, n. 6, p. e245–e253, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30115-4](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30115-4).

HATEM, B. A.; JABIR, F. A. The role of ACE2 receptor and its polymorphisms in COVID-19 infection and severity. *Biochemical Genetics*, v. 63, n. 4, p. 3657–3675, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10528-024-10890-7>.

HEGAZY, D. et al. Interleukin 12B gene polymorphism and apparent resistance to hepatitis C virus infection. *Clinical and Experimental Immunology*, Hoboken, v. 152, n. 3, p. 538–541, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03655.x>.

HELDIN, C. H.; WESTERMARK, B. Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiological Reviews*, v. 79, n. 4, p. 1283–1316, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.4.1283>.

HOFFMANN, M. et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell*, v. 181, n. 2, p. 271–280.e8, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.

HU, B.; HUANG, S.; YIN, L. The cytokine storm and COVID-19. *Journal of Medical Virology*, v. 93, p. 250–256, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1002/jmv.26232>.

HUANG, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *The Lancet* (London, England), v. 395, n. 10223, p. 497–506, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30183-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30183-5).

INTERNATIONAL COMMITTEE ON TAXONOMY OF VIRUSES (ICTV). Virus taxonomy: 2024 release – SARS-CoV-2 (Betacoronavirus, Sarbecovirus). [S. l.], 2024. Disponível em: https://ictv.global/taxonomy/taxondetails?taxnode_id=202401860&taxon_name=Beta coronavirus. Acesso em: 2 jul. 2025.

JACKSON, C. B. et al. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, [S. l.], v. 23, n. 1, p. 3–20, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41580-021-00418-x>

JARDIM-SANTOS, G. P. et al. Unbalanced networks and disturbed kinetics of serum soluble mediators associated with distinct disease outcomes in severe COVID-19 patients. *Frontiers in Immunology*, v. 13, p. 1004023, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.1004023>.

JASIULIONIS, M. Abnormal epigenetic regulation of immune system during aging. *Frontiers in Immunology*, v. 9, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00197>.

JORDAN, R. E. et al. Covid-19: risk factors for severe disease and death. *BMJ*, v. 368, m1198, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1198>.

JOSUTTIS, D. et al. Vascular endothelial growth factor as potential biomarker for COVID-19 severity. *Journal of Intensive Care Medicine*, v. 38, n. 12, p. 1165–1173, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1177/08850666231186787>.

KAMALI, Z. et al. A Mendelian randomization cytokine screen reveals IL-13 as causal factor in risk of severe COVID-19. *Journal of Infection*, v. 85, n. 3, p. 334–363, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2022.05.024>.

KARIA, R. et al. COVID-19 and its modes of transmission. *SN Comprehensive Clinical Medicine*, v. 2, n. 10, p. 1798–1801, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42399-020-00498-4>.

KAUR, S. et al. The looming storm: Blood and cytokines in COVID-19. *Blood Reviews*, v. 46, p. 100743, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.blre.2020.100743>.

KOLOSSVÁRY, M. et al. Identification of pre-infection markers and differential plasma protein expression following SARS-CoV-2 infection in people living with HIV. *EBioMedicine*, v. 90, p. 104538, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2023.104538>.

KORN, T. et al. IL-17 and Th17 Cells. *Annual Review of Immunology*, v. 27, p. 485–517, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.021908.132710>.

LAI, Y. J. et al. Biomarkers in long COVID-19: a systematic review. *Frontiers in Medicine*, v. 10, 1085988, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1085988>.

- LANG, F. M.** et al. GM-CSF-based treatments in COVID-19: reconciling opposing therapeutic approaches. *Nature Reviews Immunology*, v. 20, p. 507–514, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41577-020-0357-7>.
- LASSI, Z.** et al. A systematic review and meta-analysis of data on pregnant women with confirmed COVID-19: clinical presentation, and pregnancy and perinatal outcomes based on COVID-19 severity. *Journal of Global Health*, Edinburgh, v. 11, 05018, 2021. DOI: <https://doi.org/10.7189/jogh.11.05018>.
- LENG, Z.** et al. Transplantation of ACE2– mesenchymal stem cells improves the outcome of patients with COVID-19 pneumonia. *Aging and Disease*, v. 11, n. 2, p. 216–228, 2020. DOI: <https://doi.org/10.14336/AD.2020.0228>.
- LEUNG, N. H. L.** Transmissibility and transmission of respiratory viruses. *Nature Reviews Microbiology*, v. 19, n. 8, p. 528–545, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41579-021-00535-6>.
- LEVI, J.** et al. Dynamics of SARS-CoV-2 Variants of Concern in Brazil, Early 2021. *Frontiers in Public Health*, v. 9, p. 784300, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.784300>
- LIM, S.** Targeting SARS-CoV-2 and host cell receptor interactions. *Antiviral Research*, [S. l.], v. 210, p. 105514, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2022.105514>
- LIN, Y.; WU, Y.; ZHONG, P.** et al. A clinical staging proposal of the disease course over time in non-severe patients with coronavirus disease 2019. *Scientific Reports*, v. 11, p. 10681, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90111-y>.
- LIU, Y.** et al. Clinical and biochemical indexes from 2019-nCoV infected patients linked to viral loads and lung injury. *Science China Life Sciences*, v. 63, p. 364–374, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11427-020-1643-8>. (Referência "2020a")
- LIU, Y.** et al. Elevated plasma levels of selective cytokines in COVID-19 patients reflect viral load and lung injury. *National Science Review*, v. 7, n. 6, p. 1003–1011, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa037>. (Referência "2020b")
- LUCAS, C.** et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*, v. 584, n. 7821, p. 463–469, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2588-y>.
- LUCIJANIĆ, M.** et al. The performance of the WHO COVID-19 severity classification, COVID-GRAM, VACO Index, 4C Mortality, and CURB-65 prognostic scores in hospitalized COVID-19 patients: data on 4014 patients from a tertiary center registry. *Croatian Medical Journal*, v. 64, n. 1, p. 13–20, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3325/cmj.2023.64.13>.
- MACERA, M.** et al. Clinical presentation of COVID-19: case series and review of the literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, [S. l.], v. 17, n. 14, p. 5062, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijerph17145062>.
- MAJEED, A. Y.; ZULKAFI, N. E. S.; AD'HIAH, A. H.** Serum profiles of pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines in non-hospitalized patients with mild/moderate COVID-19 infection. *Immunology Letters*, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.imlet.2023.06.008>.

MALEK, A. E. Time to revisit the use of G-CSF after allogeneic haematopoietic cell transplantation in COVID-19 era? *British Journal of Cancer*, v. 124, n. 7, p. 1183, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41416-020-01195-8>.

MALIHA, S. T.; FATEMI, R.; ARAF, Y. COVID-19 and the brain: understanding the pathogenesis and consequences of neurological damage. *Molecular Biology Reports*, v. 51, n. 1, p. 318, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11033-024-09279-x>.

MALIK, Y. A. Covid-19 variants: impact on transmissibility and virulence. *The Malaysian Journal of Pathology*, Kuala Lumpur, v. 44, n. 3, p. 387–396, 2022.

MAO, L. et al. Neurologic manifestations of hospitalized patients with coronavirus disease 2019 in Wuhan, China. *JAMA Neurology*, v. 77, n. 6, p. 683–690, 2020. DOI: [10.1001/jamaneurol.2020.1127](https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2020.1127).

MAO, R. et al. Manifestations and prognosis of gastrointestinal and liver involvement in patients with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet. Gastroenterology & Hepatology*, v. 5, n. 7, p. 667–678, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-1253\(20\)30126-6](https://doi.org/10.1016/S2468-1253(20)30126-6).

MARTINS-FILHO, P. et al. Dynamics of hospitalizations and in-hospital deaths from COVID-19 in northeast Brazil: a retrospective analysis based on the circulation of SARS-CoV-2 variants and vaccination coverage. *Epidemiology and Health*, v. 44, p. e2022036, 2022. DOI: <https://doi.org/10.4178/epih.e2022036>

MASON, K. E. et al. Age-adjusted associations between comorbidity and outcomes of COVID-19: a review of the evidence from the early stages of the pandemic. *Frontiers in Public Health*, v. 9, p. 584182, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.584182>.

MATHEW, D. et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals distinct immunotypes with therapeutic implications. *Science*, [S. l.], v. 369, n. 6508, p. eabc8511, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.abc8511>.

MAURER, M.; VON STEBUT, E. Macrophage inflammatory protein-1. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, [S. l.], v. 36, n. 10, p. 1882–1886, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2003.10.019>.

MAZZUCHELLI, R.; DURUM, S. K. Interleukin-7 receptor expression: intelligent design. *Nature Reviews Immunology*, [S. l.], v. 7, n. 2, p. 144–154, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri2023>.

MCINTOSH, K.; GHANDI, R. T. COVID-19: Clinical features. *UpToDate*. [S. l.], [s. n.]. Disponível em: https://www.uptodate.com/contents/covid-19-clinical-features?search=&source=history_widget&graphicRef=127890#graphicRef127890. Acesso em: 15 fev. 2025.

MEHTA, O. P. et al. Coronavirus disease (COVID-19): comprehensive review of clinical presentation. *Frontiers in Public Health*, Lausanne, v. 8, p. 582932, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.582932>.

MEHTA, P. et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *The Lancet*, [S. l.], v. 395, n. 10229, p. 1033–1034, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30628-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30628-0).

MISSÉ, D. et al. IL-22 participates in an innate anti-HIV-1 host-resistance network through acute-phase protein induction. *Journal of Immunology*, Baltimore, v. 178, n. 1, p. 407–415, 2007. DOI: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.178.1.407>.

MITTAL, R. et al. Blood-based biomarkers for diagnosis, prognosis, and severity prediction of COVID-19: opportunities and challenges. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, v. 11, n. 8, p. 4330–4341, 2022. DOI: https://doi.org/10.4103/jfmmpc.jfmmpc_2283_21.

MOORE, K. W. et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*, [S. l.], v. 19, p. 683–765, 2001. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.19.1.683>.

MORTAZ, E.; TABARSI, P.; VARAHRAM, M. et al. The immune response and immunopathology of COVID-19. *Frontiers in Immunology*, v. 11, p. 2037, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.02037>.

NATIONAL ACADEMIES OF SCIENCES, ENGINEERING, AND MEDICINE (EUA). *Long COVID: definitions, diagnostic criteria, and health outcomes*. Washington, DC: The National Academies Press, 2024. DOI: <https://doi.org/10.17226/27768>.

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH. *Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Treatment Guidelines*. Bethesda: NIH, 2023. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570371/pdf/Bookshelf_NBK570371.pdf. Acesso em: 15 set. 2025.

NGUYEN, L. H. et al. Risk of COVID-19 among frontline healthcare workers and the general community: a prospective cohort study. *The Lancet Public Health*, [S. l.], v. 5, n. 9, p. e475–e483, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(20\)30164-X](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(20)30164-X).

NICHOLLS, J. M. et al. Lung pathology of fatal severe acute respiratory syndrome. *The Lancet (London, England)*, [S. l.], v. 361, n. 9371, p. 1773–1778, 2003. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)13413-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)13413-7).

ORAN, D. P.; TOPOL, E. J. The proportion of SARS-CoV-2 infections that are asymptomatic: a systematic review. *Annals of Internal Medicine*, v. 174, n. 5, p. 655–662, 2021. DOI: <https://doi.org/10.7326/M20-6976>.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. A clinical case definition of post COVID-19 condition by a Delphi consensus. Genebra: Organização Mundial da Saúde, 2021. Disponível em: https://www.who.int/publications/i/item/WHO-2019-nCoV-Post_COVID-19_condition-Clinical_case_definition-2021.1. Acesso em: 4 jul. 2024.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. *Clinical management of COVID-19: interim guidance*, 27 May 2020. Genebra: World Health Organization, 2020. Disponível em: <https://iris.who.int/handle/10665/332196>. Acesso em: 17 fev. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. COVID-19 deaths | WHO COVID-19 dashboard. [S. l.]: [s. n.]. Disponível em: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=c>. Acesso em: 5 jul. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Statement on the fifteenth meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the coronavirus disease (COVID-19) pandemic, 5 May 2023. [S. l.]: Organização Mundial da Saúde, 2023. Disponível em: [https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-](https://www.who.int/news/item/05-05-2023-statement-on-the-fifteenth-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-)

emergency-committee-regarding-the-coronavirus-disease-(covid-19)-pandemic. Acesso em: 30 jun. 2025.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. Statement on the second meeting of the International Health Regulations (2005) Emergency Committee regarding the outbreak of novel coronavirus (2019-nCoV), 30 January 2020. [S. l.]: Organização Mundial da Saúde, 2020. Disponível em: [https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-\(2005\)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)](https://www.who.int/news/item/30-01-2020-statement-on-the-second-meeting-of-the-international-health-regulations-(2005)-emergency-committee-regarding-the-outbreak-of-novel-coronavirus-(2019-ncov)). Acesso em: 30 jun. 2025.

ORNITZ, D. M.; ITOH, N. The Fibroblast Growth Factor signaling pathway. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, v. 4, n. 3, p. 215–266, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1002/wdev.176>.

PARAMESWARAN, N.; PATIAL, S. Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, v. 20, n. 2, p. 87–103, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1615/critreveukargeneexpr.v20.i2.10>.

PARASHER, A. COVID-19: Current understanding of its pathophysiology, clinical presentation and treatment. *Postgraduate Medical Journal*, v. 97, n. 1147, p. 312–320, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1136/postgradmedj-2020-138577>.

PARISI, V.; LEOSCO, D. Precision medicine in COVID-19: IL-1 β a potential target. *JACC: Basic to Translational Science*, v. 5, n. 5, p. 543–546, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2020.04.006>.

PATTERSON, B. K. et al. Immune-based prediction of COVID-19 severity and chronicity decoded using machine learning. *Frontiers in Immunology*, v. 12, 700782, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.700782>.

PAUL, É.; BROWN, G. W.; BELL, D. et al. Preparing for pandemics needs a dose of public health and a booster of “complex thought” (Errare humanum est, perseverare diabolicum). *Global Policy*, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1111/1758-5899.13449>.

PAUL, W. E. Interleukin-4: A prototypic immunoregulatory lymphokine. *Blood*, v. 77, n. 9, p. 1859–1870, 1991.

PELUSO, M. J.; DEEKS, S. G.; MUSTAFA, S. et al. Long-term SARS-CoV-2-specific immune and inflammatory responses in individuals recovering from COVID-19 with and without post-acute symptoms. *Cell Reports*, v. 36, n. 6, p. 109518, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109518>.

PETRILLI, C. M. 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 (Clinical research ed.)*, v. 369, p. m1966, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1136/bmj.m1966>.

RAHMAN, H. S. et al. The transmission modes and sources of COVID-19: a systematic review. *International Journal of Surgery Open*, v. 26, p. 125–136, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijso.2020.08.017>.

RAMÍREZ BERRÍO, L. S. et al. COVID-19 pandemic preparedness and response in Latin American countries: scoping review and analysis based on World Health Organization standards. *Disaster Medicine and Public Health Preparedness*, v. 18, e264, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1017/dmp.2024.142>.

RANZANI, O. T. et al. Effectiveness of an inactivated Covid-19 vaccine with homologous and heterologous boosters against Omicron in Brazil. *Nature Communications*, v. 13, 5536, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33169-0>.

RASPUTNIAK, O. V.; ГАВРИЛЕНКО, Т. И.; PIDGAINA, O. A. et al. Cytokine storm in pathogenesis of COVID-19 complications. *Ukrains'kij Zhurnal Sercevo-Sudinoi Hirurgii*, v. 32, n. 3, p. 73–84, 2024. DOI: [https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32\(03\)/rg042-7384](https://doi.org/10.30702/ujcvs/24.32(03)/rg042-7384).

REEVES, J.; KOONER, J.S.; ZHANG, W. Accelerated ageing is associated with increased COVID-19 severity and differences across ethnic groups may exist. *Frontiers in Public Health*, v. 10, p. 1034227, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1034227>.

RICCI, D.; ETNA, M. P.; RIZZO, F. et al. Innate immune response to SARS-CoV-2 infection: from cells to soluble mediators. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 22, n. 13, p. 7017, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22137017>.

RIOU, J.; ALTHAUS, C. L. Pattern of early human-to-human transmission of Wuhan 2019 novel coronavirus (2019-nCoV), December 2019 to January 2020. *Euro Surveillance*, v. 25, n. 4, p. 2000058, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.4.2000058>.

RONCO, C.; REIS, T.; HUSAIN-SYED, F. Management of acute kidney injury in patients with COVID-19. *The Lancet. Respiratory Medicine*, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 738–742, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30229-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30229-0).

RUBBO, P.-A.; VAN DE PERRE, P.; TUAILLON, E. The long way toward understanding host and viral determinants of therapeutic success in HCV infection. *Hepatology International*, v. 6, n. 1, p. 4–9, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12072-011-9339-y>.

SAMPRATHI, M.; JAYASHREE, M. Biomarkers in COVID-19: an up-to-date review. *Frontiers in Pediatrics*, v. 8, p. 607647, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.607647>.

SAMPRATHI, S.; JAYASHREE, M. Biomarkers in COVID-19: An Up-To-Date Review. *Frontiers in Pediatrics*, v. 8, p. 607647, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fped.2020.607647>.

SARKODIE, S. A.; OWUSU, P. A. Global assessment of environment, health and economic impact of the novel coronavirus (COVID-19). *Environment, Development and Sustainability*, v. 23, p. 5005–5015, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10668-020-00801-2>.

SAVITRI, L.; KASIMO, E. R.; KRISSANJAYA, R. et al. Interleukin-1 as a predictor cytokine SARS-CoV: article review. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, v. 12, n. 1, p. 187–190, 2023.

SCHRODER, K. et al. Interferon- γ : an overview of signals, mechanisms and functions. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 75, p. 163–189, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1189/jlb.0603252>.

SHALDON, S.; DINARELLO, C. A.; PORT, F. K. et al. Interleukin-1: the pros and cons of its clinical relevance. *Artificial Organs*, [S. l.], v. 12, n. 3, p. 221, jun. 1988. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1525-1594.1988.tb02759.x>.

SIDDIQI, H. K.; MEHRA, M. R. COVID-19 illness in native and immunosuppressed states: A clinical-therapeutic staging proposal. *The Journal of Heart and Lung Transplantation: The Official Publication of the International Society for Heart Transplantation*, v. 39, n. 5, p. 405–407, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.healun.2020.03.012>.

SINGH, A. K. et al. Opposing roles for sMAdCAM and IL-15 in COVID-19 associated cellular immune pathology. *Journal of Leukocyte Biology*, v. 111, n. 6, p. 1287–1295, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/JLB.3COVBCR0621-300R>.

SOVA, M.; KRIEGOVA, E.; GENZOR, S. et al. Network analysis uncovers relationship between immune profiles and severity of COVID-19. *Clinical Problems*, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1183/13993003.congress-2022.3688>.

SOY, M.; KESER, G.; ATAGÜNDÜZ, P. Pathogenesis and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Turkish Journal of Biology*, v. 45, n. 4, p. 372–389, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3906/BIY-2105-37>.

SSENTONGO, P. et al. Association of cardiovascular disease and 10 other pre-existing comorbidities with COVID-19 mortality: a systematic review and meta-analysis. *PLOS ONE*, [S. l.], v. 15, n. 8, e0238215, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238215>.

TABASSUM, T.; RAHMAN, A.; ARAF, Y. et al. Prospective selected biomarkers in COVID-19 diagnosis and treatment. *Biomarkers in Medicine*, v. 15, n. 14, p. 1107–1119, 2021. DOI: <https://doi.org/10.2217/bmm-2021-0038>.

TABIBZADEH, A. et al. Evolutionary study of COVID-19, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) as an emerging coronavirus: phylogenetic analysis and literature review. *Veterinary Medicine and Science*, v. 7, n. 2, p. 559–571, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1002/vms3.394>.

TADESSE, S.; MULUYE, W. The impact of COVID-19 pandemic on education system in developing countries: A review. *Open Journal of Social Sciences*, v. 8, n. 10, p. 159–170, out. 2020. DOI: <https://doi.org/10.4236/jss.2020.810011>.

TAKATSU, K.; NAKAJIMA, H. IL-5 and eosinophilia. *Current Opinion in Immunology*, v. 20, n. 3, p. 288–294, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coi.2008.04.001>.

TANAKA, T.; NARAZAKI, M.; KISHIMOTO, T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, v. 6, n. 10, art. a016295, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a016295>.

TEMANN, U.-A.; GEBA, G. P.; RANKIN, J. A. et al. Expression of interleukin 9 in the lungs of transgenic mice causes airway inflammation, mast cell hyperplasia, and bronchial hyperresponsiveness. *The Journal of Experimental Medicine*, v. 188, n. 7, p. 1307–1320, 1998. DOI: <https://doi.org/10.1084/jem.188.7.1307>.

TESLYA, A. et al. Impact of self-imposed prevention measures and short-term government-imposed social distancing on mitigating and delaying a COVID-19

epidemic: a modelling study. *PLOS Medicine*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003166>.

THEVARAJAN, I. et al. Clinical presentation and management of COVID-19. *The Medical Journal of Australia*, v. 213, n. 3, p. 134–139, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5694/mja2.50698>.

THEVARAJAN, I.; BUISING, K.; COWIE, B. Clinical presentation and management of COVID-19. *The Medical Journal of Australia*, [S. l.], v. 213, p. 134–139, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5694/mja2.50698>.

THWAITES, R. S. et al. Inflammatory profiles across the spectrum of disease reveal a distinct role for GM-CSF in severe COVID-19. *Science Immunology*, [S. l.], v. 6, n. 57, eabg9873, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abg9873>.

TIRORE, L. L.; SERGINDO, M. T.; AREBA, A. S. et al. Assessment of COVID-19 severity levels and associated factors among patients admitted to the treatment centers in Southern Ethiopia. *Frontiers in Medicine*, v. 11, p. 1403615, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1403615>.

TORALES, J. et al. The outbreak of COVID-19 coronavirus and its impact on global mental health. *International Journal of Social Psychiatry*, v. 66, n. 4, p. 317–320, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/0020764020915212>.

TRBOJEVIĆ-AKMAČIĆ, I.; PETROVIĆ, T.; LAUC, G. SARS-CoV-2 S glycoprotein binding to multiple host receptors enables cell entry and infection. *Glycoconjugate Journal*, [S. l.], v. 38, p. 611–623, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10719-021-10021-z>

TRINCHIERI, G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, v. 3, p. 133–146, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1038/nri1001>.

VAN DE VEERDONK, F. L. et al. Kallikrein-kinin blockade in patients with COVID-19 to prevent acute respiratory distress syndrome. *eLife*, v. 9, e57555, 2020. DOI: <https://doi.org/10.7554/eLife.57555>.

VIEIRA, C. et al. Downregulation of membrane-bound ACE2 receptor has a pivotal role in COVID-19 immunopathology. *Current Drug Targets*, 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1389450121666201020154033>.

WANG, J. et al. ACE2 shedding and the role in COVID-19. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, v. 11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.789180>.

WANG, J.; CHEN, L.; SU, X. et al. Identification of potential immunological biomarkers of COVID-19 by blood transcriptome analysis. *Research Square* (preprint), [S. l.], 2023. DOI: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2482188/v1>.

WANG, K. et al. Sequential multi-omics analysis identifies clinical phenotypes and predictive biomarkers for long COVID. *Cell Reports Medicine*, [S. l.], v. 4, n. 11, p. 101254, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrm.2023.101254>.

WANG, R. Genetic variation of interleukin-1 receptor type 1 is associated with severity of COVID-19 disease. *Journal of Infection*, [S. l.], v. 84, n. 2, p. e19–e21, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.12.010>.

WARSHOW, U. et al. Cytokine profiles in high-risk injection drug users suggests innate as opposed to adaptive immunity in apparent resistance to hepatitis C virus infection. *Journal of Viral Hepatitis*, Hoboken, v. 19, n. 7, p. 501–508, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2893.2011.01574.x>.

WITKOWSKI, J. M.; FÜLÖP, T.; BRYL, E. Immunosenescence and COVID-19. *Mechanisms of Ageing and Development*, [S. l.], v. 204, p. 111672, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111672>.

WOLSZCZAK-BIEDRZYCKA, Beata et al. Unveiling COVID-19 secrets: harnessing cytokines as powerful biomarkers for diagnosis and predicting severity. *Journal of Inflammation Research*, [S. l.], v. 16, p. 6055–6070, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2147/JIR.S439217>.

WU, D.; YANG, X. O. TH17 responses in cytokine storm of COVID-19: An emerging target of JAK2 inhibitor Fedratinib. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, v. 53, n. 3, p. 368–370, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.03.005>.

XU, D. et al. Novel insights in preventing Gram-negative bacterial infection in cirrhotic patients: review on the effects of GM-CSF in maintaining homeostasis of the immune system. *Hepatology International*, v. 9, p. 28–34, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12072-014-9588-7>.

XU, Z. et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *The Lancet. Respiratory Medicine*, v. 8, n. 4, p. 420–422, 2020. DOI: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30076-X](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30076-X).

YANG, Y. et al. Plasma IP-10 and MCP-3 levels are highly associated with disease severity and predict the progression of COVID-19. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v. 146, n. 1, p. 119–127, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2020.04.027>.

YIN, Y.; WUNDERINK, R. G. MERS, SARS and other coronaviruses as causes of pneumonia. *Respirology*, v. 23, n. 2, p. 130–137, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/resp.13196>.

YUAN, Z.; SHAO, Z.; MA, L.; GUO, R. Clinical severity of SARS-CoV-2 variants during COVID-19 vaccination: a systematic review and meta-analysis. *Viruses*, v. 15, n. 10, p. 1994, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/v15101994>.

ZEMLIN, A.; WIESE, O. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) and the renin-angiotensin system: a closer look at ACE2. *Annals of Clinical Biochemistry*, v. 57, p. 339–350, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1177/0004563220928361>

ZHANG, A. W. et al. The effect of neutropenia and filgrastim (G-CSF) on cancer patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) infection. *Clinical Infectious Diseases*, Oxford, v. 74, n. 4, p. 567–574, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciab534>.

ZHAO, H. et al. SARS-CoV-2 Omicron variant shows less efficient replication and fusion activity when compared with Delta variant in TMPRSS2-expressed cells. *Emerging Microbes & Infections*, v. 11, p. 277–283, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1080/22221751.2021.2023329>.

ZHAO, Y.; KILIAN, C.; TURNER, J. E. et al. Clonal expansion and activation of tissue-resident memory-like TH17 cells expressing GM-CSF in the lungs of severe COVID-19 patients. *Science Immunology*, v. 6, n. 56, p. eabf6692, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.abf6692>.

ZHAO, Y.; QIN, L.; ZHANG, P. et al. Longitudinal COVID-19 profiling associates IL-1Ra and IL-10 with disease severity and RANTES with mild disease. *JCI Insight*, v. 5, n. 13, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1172/jci.insight.139834>.

ZHOU, Y. et al. Pathogenic T cells and inflammatory monocytes incite inflammatory storm in severe COVID-19 patients. *National Science Review*, v. 7, n. 6, p. 998–1002, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1093/nsr/nwaa041>.

ZHU, N. et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *New England Journal of Medicine*, v. 382, n. 8, p. 727–733, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2001017>.

ZINATIZADEH, M. R.; ZARANDI, P. K.; GHIASI, M. et al. Immunosenescence and inflamm-ageing in COVID-19. *Ageing Research Reviews*, v. 84, p. 101818, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arr.2022.101818>.