



Ministério da Saúde  
**FIOCRUZ**  
Fundação Oswaldo Cruz



**ILMD** INSTITUTO LEÔNIDAS  
& MARIA DEANE  
Fiocruz Amazônia

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA**  
**INTERAÇÃO PATÓGENO - HOSPEDEIRO (PPGBIO - Interação)**

**MARIA EDUARDA LEÃO DE FARIAS**

**Aspergilose Pulmonar em diagnóstico *postmortem* de pacientes infectados pelo  
vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)**

**MANAUS – AM**

**2022**

**FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ - FIOCRUZ**  
**INSTITUTO LEÔNIDAS E MARIA DEANE – ILMD**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO STRICTO SENSU EM BIOLOGIA DA**  
**INTERAÇÃO PATÓGENO - HOSPEDEIRO (PPGBIO - Interação)**

**MARIA EDUARDA LEÃO DE FARIAS**

**Aspergilose Pulmonar em diagnóstico *postmortem* de pacientes infectados pelo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro, como requisito parcial e obrigatório para a obtenção do título de Mestre em Ciências, com área de concentração em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro.

**ORIENTADOR: Prof. Dr. Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda**

**COORIENTADOR (A): Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Djane Clarys Baía da Silva**

**MANAUS – AM**

**2022**

## FICHA CATALOGRÁFICA

F224a

Farias, Maria Eduarda Leão de

Aspergilose Pulmonar em diagnóstico *postmortem* de pacientes  
Infectados pelo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus  
2 (SARS-CoV-2). / Maria Eduarda Leão de Farias. – Manaus: Instituto  
Leônidas e Maria Deane, 2022.

95 f.

Dissertação (Mestrado em Biologia da Interação Patógeno-  
Hospedeiro) – Instituto Leônidas e Maria Deane, 2022.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda.

Co-Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Djane Clarys Baia da Silva.

1. Covid-19 2. SARS-CoV-2 3. Aspergilose pulmonar I. Título

CDU 616-022.6(043.3)

CDD 616.2414

22. ed.

**MARIA EDUARDA LEÃO DE FARIAS**

**Aspergilose Pulmonar em diagnóstico *postmortem* de pacientes infectados pelo vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS-CoV-2)**

Dissertação de Mestrado  
submetida ao Programa de Pós-Graduação  
em Condições de Vida e Situações de  
Saúde na Amazônia, como requisito  
obrigatório para a obtenção do título de  
Mestre em Saúde Pública.

**Aprovada em:** 04/03/2022

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof<sup>o</sup>. Dr. Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda  
Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Paulo Afonso Nogueira  
Instituto Leônidas e Maria Deane – ILMD/FIOCRUZ

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Katia Santana Cruz  
Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado – FMT-HVD

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter me guiado e dado a oportunidade de ter conseguido realizar esta pesquisa juntamente com uma equipe incrível, e principalmente, por ter chegado até aqui mesmo com as adversidades da vida.

Aos meus pais, Carla Rodrigues Leão de Farias e Eduardo Marinho Cavalcante de Farias, pela compreensão, apoio, e principalmente, amor.

Ao meu orientador, Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda, por ter aceitado me orientar, pelos ensinamentos, carinho e incentivo durante esses anos. Obrigada por ter me proporcionado a experiência de trabalhar com Pesquisa Clínica em um cenário nunca vivido antes por mim.

À minha coorientadora, Dra. Djane Clarys Baía-da-Silva, por ter aceitado o convite de me coorientar e me dado o suporte necessário durante o mestrado. O seu apoio, dedicação e ensinamentos foram extremamente essenciais.

Aos meus amigos que de forma direta ou indireta contribuíram com o meu trabalho durante esses dois anos, em especial, Christiane Maria Prado Jerônimo, João Ricardo Silva Neto, Monique Freire Santana, Guilherme Augusto Pivoto João, Thaís Pinto, Isac Silva de Jesus, Milena Ferreira dos Santos e Bernardo Maia.

À minha turma de mestrado, pelo apoio, incentivo e companheirismo nos momentos bons e ruins desta etapa.

À minha psicóloga, Hannah Marques, que me deu todo suporte psicológico desde o início da segunda onda.

Aos funcionários do Hospital e Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel, pelo apoio à pesquisa e sempre bom atendimento.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia da Interação Patógeno-Hospedeiro do Instituto Leônidas & Maria Deane – Fiocruz Amazônia pela atenção dedicada a todos os alunos do programa durante esses dois anos.

À FAPEAM, pela concessão da bolsa de mestrado.

À equipe CloroCOVID-19, que se dedicou de forma heroica na condução do ensaio clínico em meio à tanta angústia em uma fase que nunca tínhamos vivenciado na vida. Meus sinceros agradecimentos.

Aos familiares e responsáveis dos participantes incluídos neste estudo, meus sinceros sentimentos e agradecimentos. E a minha solidariedade as mais de 5 milhões de mortes que já ocorreram no mundo em decorrência da COVID-19.

“Toda a nossa ciência, comparada com a realidade, é primitiva e infantil –e, no entanto, é a coisa mais preciosa que temos”.

**Albert Einstein**

## RESUMO

Infecções secundárias em quadros respiratórios agudos graves em pacientes infectados por coronavírus 2 (SARS-CoV-2), como foram bem documentados em pacientes com gripe, nos quais levam à deterioração clínica e mortalidade, e requerem cuidados intensivos. No entanto, há incerteza na literatura sobre se o COVID-19 predispõe a doenças fúngicas invasivas. Entre abril e julho de 2020, antes da ampla recomendação de corticosteroides para COVID-19 grave, um total de 50 autópsias foram realizadas em Manaus. As amostras de tecido pulmonar foram preparadas e analisadas por dois patologistas diferentes. Detecção de galactomanana sérica, reação de cadeia polimerase e sequenciamento da amostra foram realizados para confirmar doença fúngica associada à COVID-19. A incidência de CAPA foi calculada, sendo considerada a razão entre o número de pacientes com Aspergilose e o total de pacientes autopsiados. Confirmamos dois casos de Aspergilose Invasiva por meio de análise histopatológica e sequenciamento de genes (4%) em nossa série de autópsias. A incidência de Aspergilose confirmada parece muito menor do que o esperado nas definições 'provável e possível', e uma abordagem individualizada deve ser considerada para cada cenário de país. Curiosamente, o tempo prolongado de internação na UTI não foi observado em nenhum dos casos. O diagnóstico e tratamento oportunos da infecção fúngica podem reduzir as taxas de mortalidade.

**Palavras-chave:** COVID-19, Aspergilose Pulmonar, incidência.



## ABSTRACT

Secondary infections reported in severe acute respiratory disease coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infected patients, such, have been well documented in influenza patients, in whom they lead to clinical deterioration and mortality, and require intensive care. However, there is uncertainty in the literature about whether COVID-19 predisposes to such invasive fungal diseases. Between April and July 2020, and therefore, prior to the broad recommendation of corticosteroids for severe COVID-19, a total of 50 autopsies were performed in Manaus. As a lung tissue sample were prepared and analyzed by two different pathologists. Serum galactomannan detection, polymerase chain reaction and sample sequencing were performed to confirm fungal disease associated Covid-19. The incidence of CAPA was calculated, considering the reason between the number of patients with confirmed aspergillosis and the total number of autopsied patients. We confirmed two invasive aspergillosis cases through histopathology and gene sequencing (4%) in our autopsy series. The confirmed invasive aspergillosis incidence seems much lower than expected on the 'probable and possible' definitions, and an individualized approach should be considered for each country scenario. Interestingly, the prolonged length of stay in the ICU was not observed in any of the cases. Timely diagnosis and treatment of fungal infection can reduce mortality rates.

**Key words:** Covid-19, pulmonary aspergillosis, incidence.

## Lista de Siglas e Abreviaturas

<b>2019-nCoV</b>	Novo coronavírus 2019
<b><i>A. awamori</i></b>	<i>Aspergillus awamori</i>
<b><i>A. citrinoterreus</i></b>	<i>Aspergillus citrinoterreus</i>
<b><i>A. flavus</i></b>	<i>Aspergillus flavus</i>
<b><i>A. fumigatus</i></b>	<i>Aspergillus fumigatus</i> ,
<b><i>A. lentulus</i></b>	<i>Aspergillus lentulus</i>
<b><i>A. nidulans</i></b>	<i>Aspergillus nidulans</i>
<b><i>A. niger</i></b>	<i>Aspergillus niger</i>
<b><i>A. penicillioides</i></b>	<i>Aspergillus penicillioides</i>
<b><i>A. terreus</i></b>	<i>Aspergillus terreus</i>
<b>AspICU</b>	Aspergilose Pulmonar Invasiva em pacientes críticos
<b>BGD</b>	$\beta$ -D-glucano
<b>CAPA</b>	Aspergilose Pulmonar Associada à COVID-19
<b><i>C. albicans</i></b>	<i>Candida albicans</i>
<b><i>C. neoformans</i></b>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<b>CoVs</b>	Coronavírus
<b>DFIs</b>	Doenças Fúngicas Invasivas
<b>DPOC</b>	Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica
<b>ECA 2</b>	Enzima Conversora de Angiotensina 2
<b>ECMM</b>	Confederação Europeia de Micologia Médica
<b>EORTC</b>	Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer
<b>ERGIC</b>	Compartimento intermediário ER-Golgi
<b>GM</b>	Galactomanana
<b>GMS</b>	Grocott-Gomori
<b>HPSDRAA</b>	Hospital Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz
<b>IAPA</b>	Aspergilose Pulmonar Associada a Influenza
<b>IOT</b>	Intubação orotraqueal

<b>ISHAM</b>	Sociedade Internacional de Micologia Humana e Animal
<b>LBA</b>	Lavado Broncoalveolar
<b>MERS-CoV</b>	Vírus Síndrome Respiratória do Oriente Médio
<b>MSGERC</b>	Consórcio de Educação e Pesquisa do Grupo de Estudos de Micoses
<b><i>M. circinelloides</i></b>	<i>Mucor circinelloides</i>
<b>NAAT</b>	Teste de amplificação de ácido nucleico
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b><i>P. jirovecii</i></b>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
<b>Proteína S</b>	Proteína Spike
<b>REDCap</b>	Sistema de Captura Eletrônica de Dados de Pesquisa
<b><i>R. delemar</i></b>	<i>Rhizopus delemar</i>
<b><i>R. microsporus</i></b>	<i>Rhizopus microsporus</i>
<b>RT-LAMP</b>	Ensaio de amplificação isotérmica mediada por loop
<b>SARA</b>	Síndrome da Angústia Respiratória Aguda
<b>SARS-CoV</b>	Vírus Síndrome Respiratória Aguda Grave
<b>SARS-CoV-2</b>	Vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2
<b>SRAA</b>	Sistema renina angiotensina aldosterona
<b>SRAG</b>	Síndrome Respiratória Aguda Grave
<b>TMPRSS2</b>	Protease transmembranar
<b>VM</b>	Ventilação mecânica
<b>VNI</b>	Ventilação não invasiva
<b>VOC</b>	Variantes de preocupação
<b>VOI</b>	Variantes de interesse

## Listas de Figuras

<b>Figura 1:</b> Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 nas células.....	6
<b>Figura 2:</b> Métodos disponíveis para detecção de SARS-CoV-2.....	7
<b>Figura 3:</b> Tomografia mostrando características sugestivas de infecção fúngica invasiva.....	13
<b>Figura 4:</b> Esquema da API em pacientes com COVID-19.....	14
<b>Figura 5.</b> Artigo: Figure 1. Histopathology of the lungs of the two cases of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. (A) Numerous hyphae and fungal spores. (B) Aspergillus head, allowing visualization of phialides and conidia, with numerous fungal spores. (C) Numerous hyphae and fungal spores. Microscopic cavitation surrounded by numerous hyphae and fungal spores. (D) Presence of fungal hyphae compatible with Aspergillus sp.....	43

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Variantes de preocupação e interesse do SARS-CoV-2 mais relevantes.....	3
<b>Tabela 2.</b> Estudos sobre a incidência de CAPA.....	17
<b>Tabela 3.</b> Critérios de diagnóstico para Aspergilose.....	27
<b>Tabela 4.</b> Etapas da PCR.....	35
<b>Tabela 5.</b> Artigo: Table 1. Clinical aspects of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in a series of autopsies.....	43

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
1.1. Coronavírus .....	1
1.2. Aspectos epidemiológicos e novas variantes.....	2
1.3. SARS-CoV-2: Características e mecanismo.....	5
1.4. SARS-CoV-2: Transmissão.....	6
1.5 SARS-CoV-2: Diagnóstico.....	7
1.6 SARS-CoV-2: Manifestações clínicas.....	9
1.7 COVID-19 e coinfeções.....	10
1.7.1 Aspergilose .....	11
1.7.2 Aspergilose Pulmonar Associada a Covid-19 (CAPA).....	13
1.7.3 CAPA: Critérios para definição .....	25
1.7.4 CAPA: Incidência no mundo .....	29
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	<b>31</b>
2.1 Objetivo Geral .....	<b>31</b>
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	<b>32</b>
3.1 Local do estudo.....	<b>32</b>
3.2 Desenho do estudo .....	<b>32</b>
3.3 População de estudo.....	<b>32</b>
3.4 Critérios de elegibilidade .....	<b>32</b>
3.5 Plano amostral.....	<b>33</b>
3.6 Recrutamento e processo de consentimento.....	<b>33</b>
3.7 Coleta de dados .....	<b>34</b>
3.7.1 Autópsia Pulmonar.....	34
3.7.2 Análise histopatológica .....	34
3.7.3 PCR e Sequenciamento da amostra de tecido pulmonar .....	35
3.7.4 Detecção de galactomanana .....	35
3.8 Coleta e armazenamento de dados .....	<b>36</b>
3.9 Análise estatística.....	<b>36</b>
<b>3.10 Aspectos éticos</b> .....	<b>36</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	<b>37</b>
<b>5. LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS</b> .....	<b>44</b>
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	<b>45</b>
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	<b>46</b>
<b>8. ANEXOS</b> .....	<b>61</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

### **1.1. Coronavírus**

Os coronavírus (CoVs) são vírus causadores de infecções que comprometem o trato respiratório de seres humanos e animais, podendo causar desde um resfriado simples até síndromes respiratórias graves. Alguns vírus dessa família são zoonóticos, outros causam infecções exclusivamente em animais, como porcos, vacas, galinhas, cães e gatos, e que levou a pesquisas significativas sobre esses vírus na última metade do século XX (1,2).

Seis tipos de CoVs já haviam sido identificados pela comunidade científica antes da pandemia pelo novo coronavírus: os alfa-CoVs, HCoV-NL63 e HCoV-229E e os beta-CoVs, HCoV-OC43, HCoV-HKU1, Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS-CoV) e Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (3). O SARS-CoV (2002) foi o primeiro coronavírus identificado como causador da Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) em Foshan, China, e resultou na epidemia de 2002-2003. O MERS-CoV se originou da Península Arábica em 2012 e foi responsável pela epidemia de síndrome respiratória do Oriente Médio em 2013. SARS-CoV e MERS-CoV são altamente infectivos devido à alta capacidade de adaptação ao hospedeiro por alteração e aumento de afinidade a receptores de células humanas (4,5).

Em dezembro de 2019, casos de uma pneumonia grave de etiologia desconhecida surgiram pela primeira vez na cidade de Wuhan, China (6). Em 7 de janeiro de 2020, o resultado de um sequenciamento do genoma mostrou que a pneumonia grave estava sendo causada por um novo coronavírus (2019-nCoV), denominado, posteriormente, de vírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), causador da doença COVID-19 (7-9).

O sistema de vigilância notificou o surto à Organização Mundial de Saúde (OMS) em 1º de janeiro de 2020 e o mercado de frutos do mar e animais vivos de Huanan foi fechado, local onde as pessoas foram expostas e evoluíram com pneumonia (6). O novo vírus se espalhou rapidamente por toda a China, países Europeus e Américas, e foi declarado pandemia em 11 de março de 2020 pela OMS (10).

## 1.2. Aspectos epidemiológicos e novas variantes

Desde o início da pandemia, até o final da Semana Epidemiológica (SE) 8, até o dia 26 de fevereiro de 2022, foram registrados 434.247.399 casos confirmados e 5.944.313 óbitos no mundo. Os Estados Unidos da América, país com maior número de casos confirmados e óbitos, ocupam o primeiro lugar na classificação mundial, acumulando um total de 78.931.739 e 948.215, respectivamente. O Brasil ocupa a terceira posição na classificação mundial em casos confirmados, onde foram registrados 28.744.050 milhões e segundo em número de óbitos, com 648.913 registrados em decorrência da COVID-19 (11).

A região Amazônica é umas das mais afetadas pela pandemia desde o seu início. O primeiro caso de COVID-19 na cidade de Manaus (capital do Amazonas) foi confirmado em 13 de março de 2020, seguido pela transmissão descontrolada do vírus com pico de casos em maio de 2020. Em dezembro de 2020, a pandemia apresentou um crescimento exponencial devido ao surgimento de novas variantes e relaxamento das medidas de precaução e isolamento social. Este crescimento resultou em uma segunda onda epidêmica, quando apresentou a maior média diária de 2.927 casos em um dia. (12,13).

O SARS-CoV-2, assim como outros vírus, sofreu mutações esperadas e com o avanço da pandemia, novas variantes de interesse (VOIs) e de preocupação (VOCs) foram relatadas em diversos países, a fim de favorecer o monitoramento global e informação sobre o andamento da pandemia (14).

Uma variante com potencial de causar maior transmissibilidade ou virulência, alteração no curso clínico da doença, ou redução da eficácia das medidas de saúde pública e sociais são classificadas como VOCs. As VOIs são classificadas como variantes que possuem modificações genéticas conhecidas por afetarem características virais, como transmissibilidade, gravidade, escape imunológico, diagnóstico ou terapêutico. Além disso, causam transmissão comunitária importante ao longo do tempo, sugerindo risco emergente para saúde pública mundial. Os tipos de variantes podem ser reclassificados quando não representarem mais um grande risco para saúde pública (15).

As novas mutações resultaram em respostas às mudanças do perfil imunológico dos hospedeiros humanos. Várias estão associadas a aumento da transmissibilidade, levantando questionamentos sobre sua evolução, taxas de mutações dos vírus e transmissão viral, e redução da eficácia das vacinas existentes, onde as variantes denominadas de interesse, Alfa,



Beta, Gama, Delta e, atualmente Ômicron, são as mais relevantes até o momento (Tabela 1) (15–17).

**Tabela 1.** Variantes de preocupação e interesse do SARS-CoV-2 mais relevantes.

Classificação	Variante	Linhagem pango	GISAID*	Próxima linhagem	País de origem	Designação
VOCs	Alpha	B.1.1.7	GRY	20I (V1)	Reino Unido, setembro-2020	18-dezembro-2020
	Beta	B.1.351	GH/501Y.V2	20H (V2)	África do Sul, maio-2020	18-dezembro-2020
	Gamma	P.1	GR/501Y.V3	20J (V3)	Brasil, novembro-2020	11-janeiro-2021
	Delta	B.1.617.2	GK	21A, 21I, 21J	Índia, outubro-2020 Oct-2020	11-maio-2021
	Ômicron	B.1.1.529	GRA	21K, 21L, 21M	Diversos países, novembro-2021	26-novembro-2021
VOIs	Lambda	C.37	GR/452Q.V1	21G	Peru, dezembro-2020	14-jun.-2021
	Mu	B.1.621	GH	21H	Colombia, janeiro-2021	30-agosto-2021

\*GISAID: Iniciativa global para compartilhamento de dados sobre gripe

Tabela adaptada da OMS (<https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>)

A variante Alpha (B.1.1.7) foi relatada no Reino Unido. A variante Beta (B.1.351) foi relatada inicialmente na África do Sul e é provavelmente originada da linhagem B.1.1.28. e B.1.351. Estas, apresentaram a mutação E484K relevante para a atividade da proteína Spike (S), e no fim de 2020 era responsável por 28% da infecção por SARS-CoV-2 no Reino Unido (17). Na Índia, o número de casos aumentou de forma rápida, ocasionando uma crise de saúde pública no país. Estudos associaram essa rápida disseminação com o surgimento de uma nova variante, a Delta (B.1.617), que apresentou oito mutações na proteína S. Dentre as oito mutações, E484K e L452R, podem resultar em um aumento da ligação aos receptores de enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2) e na taxa de clivagem S1-S2, resultando em uma maior transmissibilidade (18–20).

A mutação E484K localiza-se no domínio de ligação ao receptor e aumenta a afinidade com os receptores ECA, facilitando a entrada do vírus na célula hospedeira, servindo como alvo de neutralização por tratamentos com anticorpos e soros vacinais. Outra mutação, biologicamente importante, como a N501Y, codifica a proteína S e está associada a uma disseminação mais veloz em países como Grã-Bretanha e Austrália (21).

No Brasil, a variante Gamma (P.1) foi detectada pela primeira no estado do Amazonas em 2 de janeiro de 2021, sendo posteriormente reconhecida como linhagem emergente em Manaus. O seu surgimento foi alegado como causa putativas da segunda onda do SARS-CoV-2 no Amazonas (22). Fatores como redução dos níveis de anticorpos e surgimento de novas variantes podem contribuir na ocorrência de novas ondas pandêmicas. P.1 é uma linhagem altamente transmissível (23).

Recentemente, uma nova variante, conhecida como Ômicron (B.1.1.529), foi identificada pela primeira vez em Botsuana em 11 de novembro de 2021, rapidamente se espalhou para países vizinhos na África e já foi encontrada em pelo menos 26 países do mundo. Além disso, possui uma alta transmissibilidade e infectividade devido às trinta mutações identificadas na proteína Spike, sendo 23 nunca identificadas em outras variantes (24).

A maior transmissibilidade, infectividade e resistência imunológica adquirida com as frequentes mutações que ocorrem, mais especificamente na proteína S do SARS-CoV-2, sugere que elas estão se adaptando para uma melhor transmissão do vírus. Com isso, variantes continuarão a emergir, tornando-se imprevisível o término da pandemia (25).

### 1.3. SARS-CoV-2: Características e mecanismo

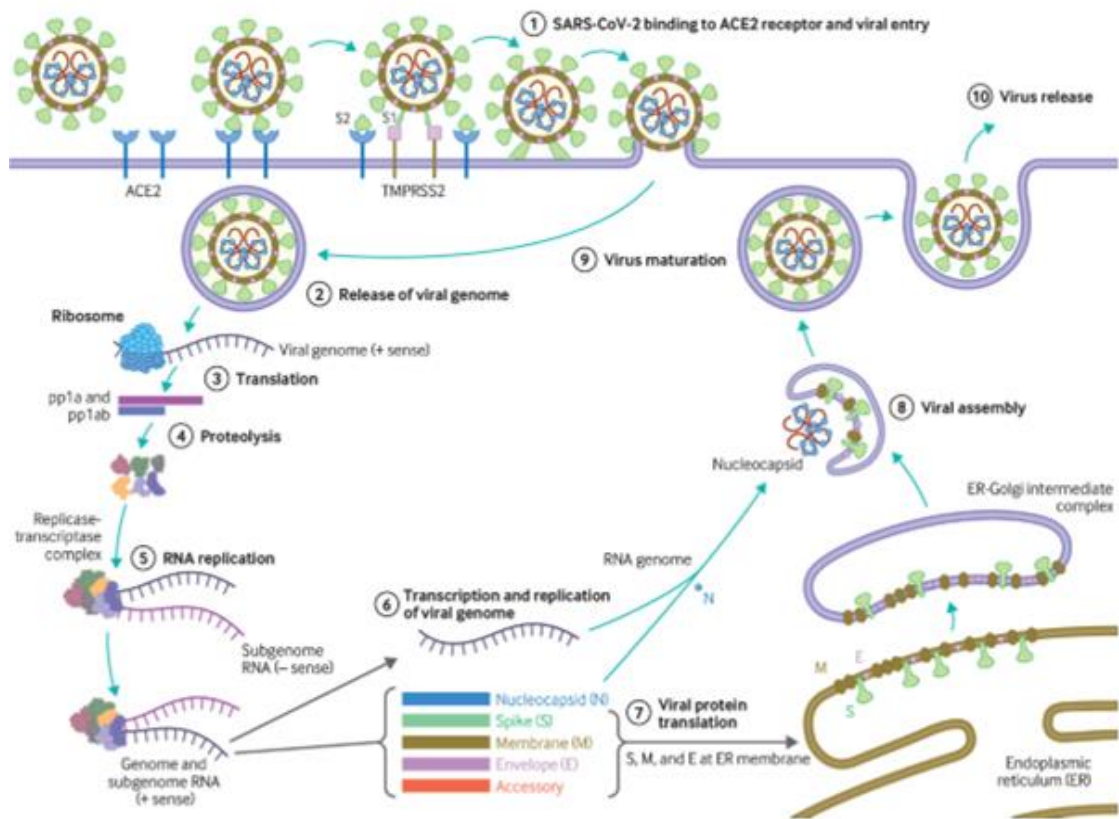
Por meio da recombinação genética e variação, os CoVs têm uma boa capacidade adaptativa e devido podem infectar novos hospedeiros. Pressupõe-se que os morcegos tenham sido um reservatório natural do SARS-CoV-2, mas foi sugerido que os humanos foram infectados por meio de um hospedeiro intermediário, como o pangolim (5,6).

O SARS-CoV-2 é o terceiro coronavírus que causou a disseminação de doenças respiratórias graves em humanos. É um vírus pertencente à *ordem Nidovirales*, família *Coronaviridae*, subfamília *Orthocoronavirinae*, gênero *Betacoronavirus* e subgênero *Sarbecovirus*. É um vírus RNA de fita simples, sentido positivo não segmentado, com envelope em forma de espículas formadas por trímeros da proteína Spike (S), responsável pela adesão e interiorização do vírus nas células do hospedeiro (2,26,27).

O vírus se liga ao receptor ECA 2 como alvo do hospedeiro em sinergia com a protease transmembranar (TMPRSS2) onde ocorre a fusão da membrana e liberação do genoma viral no citoplasma do hospedeiro. As proteínas estruturais e o RNA genômico são sintetizados no sítio de replicação e translocados através de um mecanismo desconhecido para o compartimento intermediário ER-Golgi (ERGIC), onde ocorre a montagem e maturação do vírus (28,29). Os vírus agrupados brotam no lúmen ERGIC e atingem a membrana plasmática através da via secretora, onde são liberados no espaço extracelular após a fusão das vesículas contendo vírus com a membrana plasmática e peptídeo de fusão (Figura 1) (30).

A maior carga viral do SARS-CoV-2 é observada logo no início dos sintomas e o declínio depois da segunda semana, indicando maior infectividade antes ou nos primeiros cinco dias de doença com disseminação rápida e eficiente (28,31). Um fator que justifica a sua rápida disseminação é a forte interação da proteína S com o receptor ECA 2 na presença da TMPRSS2 presentes na membrana celular, em especial das células do sistema respiratório e conjuntivo (28,32,33).

**Figura 1:** Mecanismo de entrada do SARS-CoV-2 nas células.



**Fonte:** Cevik et al, 2020.

#### 1.4. SARS-CoV-2: Transmissão

A exposição a gotículas respiratórias que possuem o vírus por contato próximo com indivíduos pré-sintomáticos, assintomáticos ou sintomáticos que abrigam o vírus, é o principal modo de transmissão do SARS-CoV-2. Transmissão por aerossóis também foi implicada na disseminação do vírus (14).

O contato com superfícies inanimadas contendo SARS-CoV-2 foi bem relatado, dando ênfase na viabilidade do vírus em superfícies porosas e não porosas. No entanto, o risco é baixo e não é a principal via de transmissão (14).

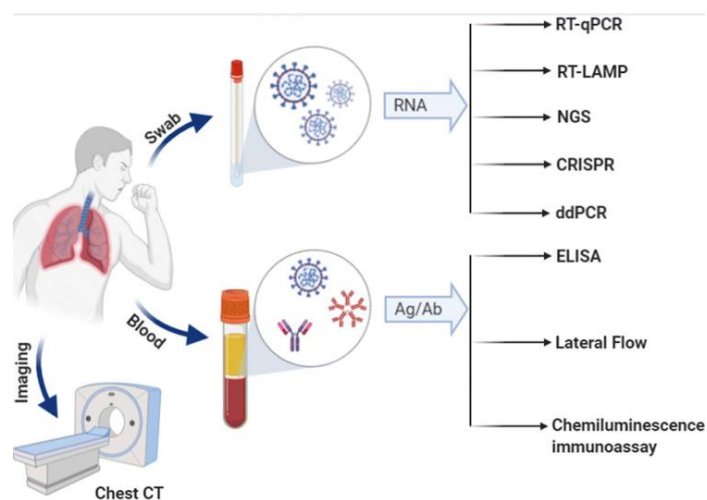
Yeo e colaboradores relataram que é possível encontrar o vírus em fezes, implicando em possível transmissão fecal-oral, no entanto, mais estudos precisam ser realizados sobre a temática (34). A transmissão vertical pode acontecer, mas é em uma minoria de casos. Suas

taxas de infecção são parecidas com outros patógenos que ocasionam infecções congênitas (35). Mais estudos precisam ser realizados sobre as temáticas.

### 1.5 SARS-CoV-2: Diagnóstico

O diagnóstico de rotina da COVID-19 pode ser feito por investigação clínica-epidemiológica e laboratorial. Sua confirmação deve ser feita por exames de imagem e laboratoriais conforme representado na figura 2 (36).

**Figura 2:** Métodos disponíveis para detecção de SARS-CoV-2



**Fonte:** Rai et al. 2021.

Com a disponibilidade das primeiras sequências do genoma de SARS-CoV-2, iniciaram-se o desenvolvimento de ferramentas para o diagnóstico laboratorial da infecção, através de testes imunológicos para a detecção de antígenos ou anticorpos, bem como a utilização de protocolos de biologia molecular para a amplificação de ácido nucléicos (29,37).

Essas tecnologias laboratoriais para a COVID-19 são atualmente muito utilizadas e possuem finalidades que vão além do diagnóstico. São capazes de rastrear indivíduos assintomáticos, populações de alto risco, detecção de contatos entre pessoas, auxilia no diagnóstico clínico, monitora a evolução da doença e proporciona o rastreamento da população de forma geral (37,38).

Os testes envolvendo a utilização de imunoglobulinas são capazes de sinalizar a presença de antígenos de SARS-CoV-2 ou anticorpos anti-SARS-CoV-2. Estes, são métodos de escolha voltados para os casos que são denominados suspeitos, proporcionando resultados sobre a resposta imunológica do organismo que carrega o vírus e se já houve uma reação já

estabelecida (39,40). Baseado nos processos de produção de anticorpos na presença de SARS-CoV-2, é possível descrever os testes sorológicos como metodologias práticas para a vigilância da COVID-19, definindo infecções recentes ou tardias (29). Possuem a vantagem de detectar anticorpos ou antígenos em soro ou sangue total, todavia, não detectam infecções em fases iniciais, não sendo recomendado para diagnóstico de infecção em fase aguda, além de possuir uma baixa sensibilidade, podendo ter maior probabilidade de resultados falso-negativos (41).

Testes mais sensíveis, como os testes de amplificação de ácido nucleico (NAAT), geralmente são os preferidos para detectar infecções virais precoces, uma vez que a viremia é observada no início da doença. Os diferentes tipos de ensaios NAAT, como RT-PCR, ensaio baseado em amplificação isotérmica mediada por loop (RT-LAMP) e sequenciamento de alto rendimento foram desenvolvidos para o rápido e preciso diagnóstico de COVID-19. No entanto, o NAAT exige alta qualidade do RNA SARS-CoV-2 (36).

O RT-PCR é considerado o teste padrão ouro e baseia-se na detecção de RNA genômico viral de SARS-CoV-2. Possui alta sensibilidade e especificidade para as partículas do vírus. (29,39,40). É ideal que esse tipo de teste seja realizado na fase inicial da doença, resultado que é condicionado pelo limite de detecção, pois cargas virais baixas não são detectadas. Devido a sua alta sensibilidade, é possível a detecção de genes, ou fragmentos de proteínas residuais após o período infeccioso, fator que pode dificultar a interpretação epidemiológica. Um resultado negativo não exclui a infecção e não deve ser considerado como único método para diagnóstico. Com o avanço da pandemia, modificações do vírus e incompatibilidade entre primers, a sensibilidades desses testes podem ser reduzidas (41).

Outra técnica essencial para o diagnóstico da COVID-19 é conhecida como tomografia computadorizada (TC). Baseia-se na realização de imagens do tórax em corte transversal de vários ângulos para a identificação de alterações nos pulmões. Trata-se de uma técnica não invasiva, indolor, sendo feita após alguns dias do início da infecção. Todavia, vale lembrar que assim como os métodos de imunodiagnóstico, a TC é caracterizada como uma forma de diagnóstico complementar (29,38). As características de imagem que indicam a infecção por SARS-CoV-2 geralmente mostram distribuição característica principalmente subpleural, ao longo dos feixes vasculares brônquicos; frequentes lesões únicas ou duplas de diferentes formas; densidade geralmente irregular, padrão de pavimentação em mosaico misturado com opacidade de vidro fosco e espessamento septal interlobular, consolidação e

parede brônquica espessada e sinais concomitantes como broncograma aéreo, efusão pleural e aumento dos linfonodos mediastinais (42).

### **1.6 SARS-CoV-2: Manifestações clínicas**

O vírus é responsável por um dano celular que causa a desregulação do sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) tendo como consequência a regulação negativa do receptor ECA2, dano celular endotelial, tromboinflamação e desregulação da resposta imune com consequente hiperinflamação devido a inibição da sinalização do interferon pelo vírus, seguido de linfodepleção de células T e produção de citocinas pró-inflamatórias, particularmente IL-6 e TNF $\alpha$  (33).

As manifestações clínicas são variáveis de indivíduo para indivíduo, pode se apresentar de forma assintomática, leve e pode evoluir para formas mais graves, sendo associado a diversas manifestações extrapulmonares em outros sistemas orgânicos, como neurológicas, cardíacas, renais, dermatológicas, entre outras (33,36).

Os sinais e sintomas mais evidenciados são febre, tosse, sendo estes os mais comuns, fadiga, dispneia, desconfortos gastrointestinais como náuseas e vômito, anosmia, disgeusia, hiperemia ocular, tontura e ansiedade também são sintomas relatados, outrora, um paciente também pode desenvolver a doença de forma assintomática (43,44).

O quadro de hiperinflamação ocasionado pelo SARS-CoV-2 faz com que o paciente evolua para um quadro de SRAG, uma das complicações mais grave da doença, podendo apresentar diversos mecanismos de desregulação da perfusão pulmonar. Alguns pacientes podem necessitar de intervenção hospitalar e na maioria dos casos, necessitam de suporte de oxigênio, seja de forma invasiva ou não invasiva devido ao mecanismo fisiopatológico citado (33,45).

O suporte não invasivo consegue fornecer até 15L/min de oxigênio por meio de cateter nasal, máscara não reinalante e ventilação não invasiva (VNI). Muitos hospitais têm adotado a VNI como uma tentativa de evitar que a doença evolua para formas mais graves que necessitam de ventilação mecânica invasiva (VM). Quando não tolerados, ou que não resultam em melhora do quadro respiratório/clínico, a intervenção invasiva com intubação orotraqueal (IOT) torna-se necessária. Esse tipo de complicação associa-se com hospitalização prolongada e alta mortalidade, principalmente se os pacientes desenvolverem

falência de múltiplos órgãos. É necessário identificar pacientes que possuem alto risco de deterioração clínica, a fim de garantir tratamento oportuno em tempo hábil (45–47)

É observada também uma maior incidência de arritmias, cardiomiopatia hipoxemia e lesão cardíaca aguda (22-44%) em pacientes internados em UTI, quando comparados com não internados em UTI (2%). Mesmo com essa porcentagem de pacientes que desenvolvem complicações cardiovasculares, ainda não é indicado monitoramento por telemetria de rotina ou necessidade de triagem de biomarcadores para lesões miocárdicas, como troponinas ou BMP, todavia, o eletrocardiograma deve ser realizado em todos os pacientes internados e observar o intervalo QT, pois alguns dos medicamentos usados nesses pacientes podem causar prolongamento do intervalo QT (47).

### **1.7 COVID-19 e coinfeções**

Alguns fatores de risco tornam pessoas mais suscetíveis a deterioração clínica e infecções oportunistas, podendo associar à Síndrome da Angústia Respiratória Aguda (SARA) e tempestade de citocinas, como idade acima de 60 anos e doenças subjacentes como hipertensão, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e asma. Além de poder evoluir com imunossupressão, principalmente quando internados em UTI sob uso de VM (43,48,49).

Estudos relatam a alta prevalência de infecções secundárias em pacientes acometidos pelo vírus. Dentre as principais infecções estão aquelas causadas por bactérias - *Micobacterium pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Streptococcus pneumoniae* – vírus como os rinovírus, enterovírus e influenza. Há também coinfeções resultantes de patógenos fúngicos, incluindo *Candida pneumoniae*, *Candida albicans* e *Candida glabrata*. Tais ocorrências são características do processo de ativação desregulado do sistema imunológico, além de drogas imunossupressoras amplamente utilizadas para o tratamento da COVID-19 (50–52).

Publicações têm chamado a atenção para o uso de corticosteroides, destacando a importância de seu uso para o paciente certo no momento certo, a fim de amenizar o efeito imunomodulador desses fármacos que facilitam a invasão por outros microrganismos (53,54). Além disso, a tempestade de citocinas foi citada como desafio diagnóstico para infecções fúngicas devido à sobreposição de sintomas e achados radiológicos (55). Pacientes imunocomprometidos, em uso frequente de corticosteroides e com diabetes mellitus não controlada, são fatores de risco para micoses oportunistas (56).



Uma série de casos de mucormicose foi descrita na Índia (57). Trata-se de uma infecção fúngica angioinvasiva incomum que se desenvolve geralmente após 10 dias de hospitalização por meio da contaminação de esporos fúngicos na mucosa oral, nasal e conjuntival via inalação ou ingestão de alimentos contaminados (58,59). Um caso de infecção fatal por mucormicose rino-órbito-cerebral foi relatado em Manaus. Essa infecção é uma ameaça para pacientes com diabetes não controlada e que fazem uso de corticosteroides devido a outras condições. O diagnóstico e tratamento precoce são importantes para prevenção do avanço da doença, todavia, ainda é raramente suspeitada ou diagnosticada quando associado a COVID-19. Enfatizando a necessidade de vigilância de doenças no atual cenário pandêmico (60).

Outro caso de mucormicose pulmonar invasiva foi diagnosticado em exame *postmortem* de um paciente com COVID-19 grave, ressaltando cada vez mais a importância de mais estudos que abordem essa temática (61).

Na epidemia ocasionada pelo SARS-CoV-1 em 2003 foram relatados casos de Aspergilose em pacientes que receberam corticosteroides, mas não há relatos de estudos de incidência. Atualmente, as infecções fúngicas estão sendo cada vez mais relatadas, principalmente infecções por *Aspergillus* spp. em muitos países da Europa, Américas, Ásia e Austrália, mostrando uma grande variabilidade em estudos de incidência. Além disso, há dificuldades em obter um diagnóstico claro dessa infecção (62).

### 1.7.1 Aspergilose

A Aspergilose é uma infecção fúngica que afeta mais de 14 milhões de pessoas no mundo. É ocasionada pelo fungo do gênero *Aspergillus* e pode causar infecções principalmente em indivíduos imunocomprometidos e com doenças pulmonares subjacentes, submetidos à transplantes de medula óssea e internados em UTI, onde nos últimos 13 anos, apresentou um aumento significativo de sua incidência (63,64).

São fungos filamentosos ambientais que causam um amplo espectro de infecções em humanos. Existem mais de 250 espécies de *Aspergillus* e menos de 40 são conhecidas por causar infecções em humanos (64). Entre as espécies desse gênero, *Aspergillus fumigatus* é a mais onipresente no ambiente, podendo resistir em uma ampla faixa de pH e temperatura. Sua parede hidrofóbica permite, de forma eficiente, que seja dispersada em pequenas correntes de ar. Seu pequeno tamanho de conídios (esporos) facilitam a entrada e deposição nas vias áreas,

atingindo os alvéolos pulmonares. Em um indivíduo saudável, os conídios são rapidamente eliminados do pulmão pelas defesas imunológicas (65,67)

A infecção invasiva do trato respiratório, é comumente causada pela espécie *A. fumigatus*, seguido por *A. flavus*, *A. niger* e *A. terreus*. O *A. fumigatus* é mais comum e encontrado nos pulmões. O *A. flavus* é o mais encontrado em infecções dos seios da face. Em comparação, as feridas de queimaduras são comumente colonizadas por *A. niger* e *A. flavus* (63,65).

A principal via de infecção do *Aspergillus* é o trato respiratório, todavia, pode infectar outros tecidos, como pele, seios nasais, sistema nervoso central, olhos, unhas ou se disseminar por todo o corpo. Pode se apresentar de diversas formas, as três principais infecções broncopulmonares são: invasiva, crônica e alérgica. Também pode se apresentar como doença sinusal (63,68).

Indivíduos acometidos por esse fungo podem apresentar sinais e sintomas de pneumonia, incluindo febre, dor torácica e hemoptise, embora outros sistemas orgânicos possam estar envolvidos. A forma invasiva da doença é correlacionada com o estado imunológico do paciente, uma vez que um imunocomprometido pode ser assintomático, dificultando o diagnóstico precoce (66,68).

As formas de diagnóstico estão em constante processo de evolução, mas infecções fúngicas como a Aspergilose Pulmonar são mais frequentemente diagnosticadas por cultura, histopatologia ou pela detecção do antígeno galactomanano no sangue ou no lavado broncoalveolar (LBA) (66). Exames radiográficos, como TC, são componentes cruciais para avaliação diagnóstica. Um indivíduo acometido pode apresentar em TC consolidações focais e, nos casos de infecção invasiva, a consolidação pode ser caracterizada por nódulos com infiltrados em vidro fosco circundantes (sinal do halo) ou lesões cavitárias (Figura 3) (68).

**Figura 3:** Tomografia mostrando características sugestivas de infecção fúngica invasiva



**Fonte:** Thompson et al. 2021.

Um estudo descritivo relatou a prevalência de fungos transportados no ar de dois hospitais de uma cidade no Brasil. As amostras ambientais foram coletadas de três partes diferentes das unidades de ar-condicionado de dois setores. Várias espécies de fungos foram isoladas, as mais encontradas, em ambos os hospitais, foram *Aspergillus* spp, *Penicillium* spp, e *Cladosporium* spp., *A. penicillioides* foi encontrando em ambientes de UTI Adulto nos hospitais A e B (69).

Outro estudo realizado no Amazonas em 2013 apontou alta prevalência de Aspergilose em pacientes com baciloscopia negativa. De 15 pacientes com baciloscopia negativa, 10 (66,6%) apresentaram exames positivos para *Aspergillus* spp.(70).

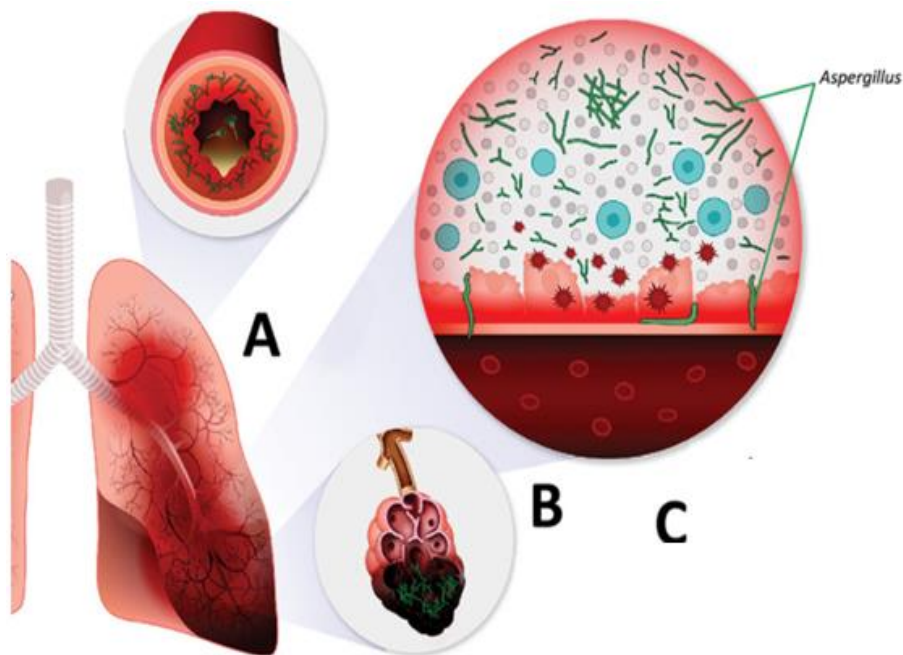
### **1.7.2 Aspergilose Pulmonar Associada a Covid-19 (CAPA)**

Infecções fúngicas são importantes causas de morbimortalidade. Desde o início da pandemia estas foram associadas a COVID-19 em pacientes internados em UTI e submetidos a VM, se assemelhando às infecções secundárias associadas aos vírus Influenza. Na última década, Aspergilose Pulmonar Invasiva (API) emergiu como um fator de risco em pacientes internados em UTI por causar insuficiência respiratória associada a Influenza e outros coronavírus, como SARS-CoV e MERS-CoV, levando à deterioração clínica e mortalidade. (71–73).

Há centenas de espécies saprofíticas do gênero *Aspergillus* com diversas características morfológicas, macroscópicas e microscópicas. Existem mais de 250 espécies no ecossistema e mais de duas dúzias são capazes de causar infecções oportunistas em seres humanos. A espécie mais frequente isolada é o *A. fumigatus*, responsável por 90% das infecções. *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* são outras espécies que também causam infecções (74). Durante o primeiro ano da pandemia ocasionada pelo SARS-CoV-2, as espécies mais relatadas nos casos de coinfeção foram *A. fumigatus*, seguido por *A. flavus*, *Aspergillus* spp. *A. niger*, *A. terreus*, *A. lentulus*, *A. nidulans*, *A. awamori*, *A. penicillioides* e *A. citrinoterreus* (75).

O seu mecanismo (Figura 4) é baseado em um aumento das respostas inflamatórias nas vias aéreas, aumentando o potencial de invasão nos pulmões. Após a invasão, os conídios de *Aspergillus* spp. evoluem para de hifas, ocasionando doença inflamatória e invasiva das vias aéreas e múltiplas manifestações como traqueobronquite e pneumonia obstrutiva, tendo como complicações de pneumonia fúngica invasiva, caracterizada por nódulos, necrose e invasão pleural. O supercrescimento de *Aspergillus* spp. pode aumentar a inflamação das vias aéreas, aumentar a produção de muco e causar pneumonia invasiva (76).

**Figura 4:** Esquema da API em pacientes com COVID-19.



**Fonte:** MARR et al., 2021.

Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica (DPOC), asma, bronquite crônica ou bronquiectasia, fibrose cística são fatores de risco para Aspergilose. O diagnóstico é desafiador, já que não há sintomas clínicos específicos em grupos de risco (77). Devido a essa associação e aumento das taxas de mortalidade por influenza, investigações diagnósticas rápidas e tratamento precoce são recomendados, embora, broncoscopia e biópsia pulmonar devem ser feitas de forma segura, devido ao risco biológico (78).

Desde o início da pandemia do novo SARS-CoV-2, uma série de estudos relataram CAPA e levantaram um questionamento se essa infecção secundária contribui para mortalidade de pacientes acometidos por essa nova doença (79). Vários métodos de diagnósticos também foram utilizados por vários autores no mundo, levantando o questionamento sobre sua incidência e mortalidade, como mostrado na Tabela 2.

A terapia antifúngica precoce é sugerida para CAPA. Voriconazol vem sendo o antifúngico mais usado para o seu tratamento. Conforme as recomendações do ECMM/ISHAM 2020, as drogas de escolha para o tratamento da CAPA são voriconazol e isavuconazol, e a terapia combinada pode ser usada se a monoterapia inicial for ineficaz ou se combinada com outras coinfeções fúngicas (80). A resposta ao tratamento antifúngico para CAPA pode ser avaliada através da melhora dos sintomas. A repetição de exames de imagem deve ser feita após a conclusão da terapia antifúngica, com no mínimo duas semanas (61).

**Tabela 2.** Estudos sobre a incidência de CAPA. Para construção desta tabela, os termos de busca pulmonary aspergillosis and COVID-19 foram utilizados no buscador *Medline*. Foram encontrados 244 artigos, destes 42 eram sobre a temática proposta neste estudo.

Autores	Local	Periodo do estudo	Incidência CAPA (%) (casos CAPA/total de pacientes avaliados)	Métodos de diagnóstico	Material	Espécie	Tratamento antifúngico?	Cooinfecção com outro fungo	Mortalidade (%)	Classificação
van Arkel et al, 2020 (81)	Holanda	Março/2020	19.4 (6/31)	Cultura Detecção de GM	LBA Soro	<i>A.fumigatus</i> (5)	Sim (5) Não (1)	Não	66.7	EORTC/MSGERC
Segrelles-Calvo et al, 2020 (82)	Espanha	Fevereiro-Abril/2020	5.4 (7/215)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Escarro	<i>A. fumigatus</i> (3) <i>A. flavus</i> (2) <i>A. niger</i> (2)	Sim (6) Não (1)	Não	86	EORTC/MSGERC
Alanio et al, 2020 (83)	França	-	33.3 (9/27)	Cultura qPCR BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A.fumigatus</i> (7)	Sim (2) Não (7)	Não	44.4	EORTC/MSGERC Critério IPA associado à influenza (Verweij)
Bartoletti et al, 2020 (55)	Itália	Fevereiro-Abril/2020	27.7 (30/108)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Soro	<i>A.fumigatus</i> (15) <i>A. niger</i> (3) <i>A. flavus</i> (1)	Sim (16) Não (14)	Não	44	EORTC/MSG AspICU
Lahmer et al, 2020 (84)	Suiça	Março-Maio/2020	3.8 (3/80)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Soro	<i>A.fumigatus</i> (3)	Sim (3)	Não	33.3	Critério IPA associado à influenza (Verweij)
Rutsaert et al, 2020 (85)	Belgica	Março-Abril/2020	35 (7/20)	Cultura Histopatologia	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (5) <i>A. flavus</i> (1)	Sim (6)	Não	28	AspICU

				Detecção de GM	Tecido de lesões traqueobrônquicas						
Helleberg et al, 2020 (86)	Dinamarca	Março-Abril/2020	25 (2/8)	Cultura Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (2)	Sim (2)	Não	100	AspICU	
Nasir et al, 2020 (87)	Paquistão	Março-Abril/2020	39.1 (9/23)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (2) <i>A. flavus</i> (6) <i>A. niger</i> (3)	Sim (5) Não (4)	Não	44	Critério IPA associado à influenza (Verweij)	
Machado et al, 2020(88)	Espanha	Março-Maio/2020	3.3 (8/239)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (6) <i>A. lentulus</i> (1) <i>A. citrinoterreus</i> (1)	Sim (5) Não (3)	Não	100	EORTC/MSGERC AspICU	
Van Biesen et al, 2020(89)	Holanda	Abril/2020	21.4 (9/42)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA não direcionado	<i>A. fumigatus</i> (5) <i>A. flavus</i> (1)	Sim (9)	Não	22.2	Nova definição	
Chauvet et al, 2020 (90)	França	Março-Maio/2020	3(6/46)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA AT	<i>A. fumigatus</i> (5)	Sim (5) Não (1)	Não	66.7	EORTC/MSGERC AspICU AspICU modificado (Schauvlieghe)	
Roman-Montez et al, 2020 (91)	México	Abril-Junho/2020	9.7 (14/144)	Cultura Detecção de GM	AT Soro	<i>A. fumigatus</i> (6) <i>A. flavus</i> (1) <i>A. niger</i> (1) <i>Aspergillus</i> spp. (3)	Sim (12) Não (2)	Não	57.1	AspICU modificado (Schauvlieghe)	
Dupont et al, 2020 (92)	França	Agosto/2020	17.9 (19/106)	Cultura Detecção de GM	LBA AT Aspirado	<i>A. fumigatus</i> (14) <i>Aspergillus</i> spp.	Sim (9) Não (10)	<i>P. jirovecii</i> (2), <i>Mucor</i> sp.	42.1	ECMM/ISHAM AspICU	

					brônquico Soro	(2)		(1) <i>Candida sp.</i> (1)		
Dellière et al, 2020 (93)	França	Março-Maio/2020	5.7 (21/366)	Cultura PCR BDG Detecção de GM	LBA AT Escarro Soro	-	-	Não	71.4	EORTC/MSGERC Critério IPA associado à influenza (Verweij)
Permpalung et al, 2021 (94)	Estados Unidos	Março-Agosto/2020	9.8 (39/396)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>Aspergillus spp.</i> (11)	Sim (19) Não (20)	Não	56.4	Novos critérios são discutidos
Lahmer et al, 2021 (95)	Alemanha	Março-Abril/2020	34 (11/32)	Cultura Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (9)	Sim (11)	Não	36	AspICU
Fekkar et al, 2021 (96)	França	Março-Abril/2020	4.8 (7/145)	Cultura PCR $\beta$ -D-glucano Detecção de GM	LBA AT Soro	<i>A. fumigatus</i> (4)	Sim (7)	Não	57.1	EORTC/MSGERC
Meijer et al, 2021 (97)	Holanda	Março-Maio/2020 e Setembro-Dezembro/2020	19.7 (13/66)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (13)	Sim (13)	Não	47	Critério IPA associado à influenza (Verweij)
Marr et al, 2021 (76)	Estados Unidos e Espanha	Março-Junho de 2020	85 (17/20)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (12) <i>A. niger</i> (4) <i>A. terreus</i> (1) <i>Aspergillus. spp</i> (2)	Sim (15) Não (2)	Não	15	AspICU



Khodavaisy et al, 2021 (98)	Irã	-	1*	Histopatologia Cultura Sequenciamento	Tecido pulmonar	<i>A. tubingensis</i>	Sim	Não	-	-
Vanbellinghen et al, 2021 (99)	Amsterdã	Março-Maio/2020	7.5(11/146)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA mini-LBA	<i>Aspergillus</i> spp. (11)	Sim (11)	Não	63.6	ECMM/ISHAM AspICU
Alobaid et al, 2021 (100)	Kuwait	-	2*	Cultura Detecção de GM	LBA AT Soro	<i>A. niger</i> (2)	Sim (2)	Não	2*	Critério IPA associado à influenza (Verweij)
Baratella et al, 2021(101)	Itália	Março/2020- Maio/2021	3.1(11**/350)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA	<i>Aspergillus</i> spp. (11)	-	Não	54.5	ECMM/ISHAM
Saltini et al, 2021(102)	Itália	-	1*	Cultura	LBA Aspirado brônquico	<i>A. fumigatus</i>	Sim	<i>M.circinelloides</i>	1*	Critérios são discutidos***
Benhadid-Brahmi, et al, 2021 (103)	França	Outubro/2020	1*	Cultura PCR Detecção de GM	LBA	<i>A. welwischiae</i>	Sim	<i>R. delemar</i>	1*	EORTC/MSGERC
Bellanger et al, 2021 (104)	França	-	1*	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i>	Sim	<i>R. microsporus</i>	1*	EORTC/MSGERC
Maes et al, 2021 (105)	Inglaterra	Março-Agosto/2020	13 (3/23)	PCR Detecção de GM	LBA	-	Sim (3)	Não	33.3	AspICU modificado (Schauwvlieghe)
Pintado et al, 2021 (106)	México	Março-Julho/2020	19.2(16/83)	Cultura Detecção de GM	LBA Soro	<i>Aspergillus</i> sp. (1)	Sim (2)	Não	16.8	ECMM/ISHAM
Igbal et al,	Paquistã	Junho/202	19.9		AT	<i>A. fumigatus</i>	Sim (61)	Não	91.6	ECMM/ISHAM

2021 (107)	o	0- Maio/2021	(61/307)	Cultura Detecção de GM	Soro	(48) <i>A. flavus</i> (10) <i>A. terreus</i> (2) <i>A.niger</i> (1)					
Ranhel et al, 2021 (108)	Portugal	Novembro/ 2020- Fevereiro/ 2021	4 (10/248)	Cultura PCR Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (5) <i>A. terreus</i> (1) <i>A. welwitschiae</i> (1)	Sim (8) Não (2)	Não	30	ECMM/ISHAM EORTC/MSGERC AspICU modificado (Schauvlieghe)	
Versyck et al, 2021 (109)	França	Março- Abril/2020	3.7 (2/54)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (2)	Sim (2)	Não	100	AspICU modificado (Schauvlieghe)	
Sivasubrama nian et al, 2021 (110)	Estados Unidos	Janeiro/20 20 - Março/202 1	5(48/970)	Cultura BDG Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (25) <i>A. niger</i> (6) <i>A. flavus</i> (2) <i>Aspergillus</i> spp. (6) Mais de uma espécie identificada (9)	Sim (21) Não (27)	Não	83	ECMM/ISHAM	
Leistner et al, 2022 (111)	Berlim	Janeiro- Dezembro/ 2020	9 (47/522)	Cultura Detecção de GM	LBA LNB Soro	<i>A. fumigatus</i> (37) <i>A. niger</i> (6), <i>A. flavus</i> (1) <i>A. nidulans</i> (1)	Sim (29) Não (18)	Não	64	ECMM/ISHAM	
Das et al, 2022 (112)	Delhi	Novembro - Dezembro/ 2020	31.57 (12/38)	Detecção de GM	Soro	-	Não (12)	Não	31.5	Critérios são discutidos***	
Kirchhoff et al, 2022 (113)	Aleman ha	Fevereiro/ 2020- Fevereiro/	7.2 (30/414)	Cultura PCR Detecção de	LBA AT Soro	<i>A. fumigatus</i> (25) <i>Aspergillus</i> spp.	Sim (21) Não (9)	Não	62	ECMM/ISHAM	

Martín et al, 2022 (114)	Valência	2021 Março- Maio de 2020	20 (4/15)	GM Cultura Detecção de GM	LBA	(5) <i>A. fumigatus</i> (3) <i>Aspergillus spp.</i> (1)	Sim (4)	Não	44	AspICU
Farias et al, 2022 (115)	Brasil	Abril- Julho/2020	4 (2/50)	Histopatologia PCR Sequenciamento Detecção de GM	Tecido pulmonar Soro	<i>A. penicilliodes</i> (1) <i>Aspergillus spp.</i> (1)	Não (2)	Não	-	Critérios são discutidos***
Jiang et al, 2022 (116)	China	Janeiro- Junho/2020	50 (4/8)	PCR Sequenciamento Detecção de GM	LBA Soro	<i>A. fumigatus</i> (4)	Sim (8)	Não	66.7	AspICU modificado
Traver e Sanchez, 2022 (117)	Estados Unidos	Janeiro/2021	1*	Cultura	LBA	<i>A. fumigatus</i>	Sim	<i>C. neoformans</i>	1*	ECMM/ISHAM
Bhopawala et al, 2022(118)	-	Novembro/ 2020 - Abril/2021	1*	Histopatologia Detecção de GM	LBA Tecido pulmonar	<i>A. fumigatus</i>	Sim	Não	-	EORTC/MSGERC
Yen Tio et al, 2022 (119)	Austrália	Março- Agosto/2020	8(4/50)	Cultura PCR Detecção de GM	AT Soro	<i>A.fumigatus</i> (2) <i>A. terreus</i> (1)	Sim (3) Não (1)	Não	75	Critérios são discutidos***
Benedetti et al, 2022 (120)	Buenos Aires	-	1*	Cultura Detecção de GM	AT Sangue	<i>A. fumigatus</i>	Sim	<i>C. albicans</i>	1*	ECMM/ISHAM

Abreviaturas: AT – aspirado traqueal; AspICU - algoritmo clínico para classificar Aspergilose Pulmonar Invasiva em pacientes críticos; BDG – 1–3-β-D-glucano; ECMM/ISHAM - Confederação Europeia de Micologia Médica e Sociedade Internacional de Micologia Humana e Animal; EORTC/MSGERC - Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer e do Consórcio de Educação e Pesquisa do Grupo de Estudos de Micoses; GM- galactomanana; LBA - lavado broncoalveolar; mini-LBA – mini lavado broncoalveolar; LNB – lavado não brônquico; PCR – reação de cadeia polimerase;

\* relato de caso – sem porcentagens de incidência e mortalidade; \*\* pacientes com bronquiectasia; \*\*\* critérios para diagnóstico vigentes são comparados pelos autores;

### 1.7.3 CAPA: Critérios para definição

A Organização Europeia para Pesquisa e Tratamento do Câncer e do Consórcio de Educação e Pesquisa do Grupo de Estudos de Micoses (EORTC/MSGERC) de doenças fúngicas invasivas (DFIs), Confederação Europeia de Micologia Médica e a Sociedade Internacional de Micologia Humana e Animal (ECMM/ISHAM) e um algoritmo clínico para classificar Aspergilose Pulmonar Invasiva em pacientes críticos (AspICU) são os mais citados no mundo e estabeleceram um conjunto de definições para diagnóstico de Aspergilose Pulmonar com o intuito de melhorar a qualidade e fortalecer a consistência de tais estudos (79,121,122).

Verweij e colaboradores realizaram uma revisão da Aspergilose Pulmonar Associada a Influenza (IAPA) em pacientes de UTI para definir casos comprovados e prováveis. Definiram como casos comprovado pacientes com biópsia pulmonar mostrando elementos fúngicos invasivos e crescimento de *Aspergillus* em cultura ou PCR positivo em tecido; como caso provável 1: pacientes que possuem infiltrado pulmonar e pelo menos um dos seguintes critérios: Índice de GM sérica  $> 0,5$  ou índice de GM de LBA  $\geq 1,0$  ou cultura de LBA positiva; ou caso provável 2: paciente com infiltrado cavitante (não atribuído a outra causa) e pelo menos um dos seguintes exames positivos: Cultura de escarro ou cultura de aspirado traqueal positiva. Além disso, recomendaram que corticoides não devem ser administrados em pacientes com Influenza, pois o uso pode ser associado a um risco maior de IAPA (123).

Exames radiológicos, como TC, são considerados uma das principais dificuldades para diagnóstico diferencial de CAPA devido a inespecificidade dos sinais radiológicos principalmente nos estágios tardios da doença. Lesões pulmonares no quadro da SRAG podem mimetizar CAPA. Padrões típicos da COVID-19 como “vidro fosco” podem estar associadas a danos pulmonares agudos como resultado do efeito tóxico de medicamentos e podem ser interpretadas como sinais de pneumonia por *Pneumocystis* (82).

Em suma, coleta de amostras respiratórias como LBA e biópsia de tecido pulmonar são materiais de escolha para realização de cultura de tecido e a histopatologia. Todavia, em pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2 esses métodos não são recomendados por serem de alto risco devido a geração de aerossóis. O uso de biomarcadores, como GM e BDG em soro

e LBA auxiliam no diagnóstico, mas também não comprovam a invasão fúngica (Tabela 3) (78,79).

Donnelly e colaboradores realizaram uma revisão e atualização das definições de consenso de doenças fúngicas invasivas EORTC/MSGERC, visto que o cenário pandêmico levantou questionamentos sobre o diagnóstico de doenças fúngicas onde os métodos ideais para diagnóstico não podem ser realizados devido ao risco de aerossóis (121).

As classificações de doença fúngica possuem diversos critérios, as definições comprovada, provável, possível e putativa requerem a presença de características clínicas, radiológicas e micológicas. Ceesa e colaboradores, em uma resposta para uma revisão publicada por Thompson e Young na revista NEJM, evidenciaram a importância de ensaios combinados para diagnóstico de Aspergilose (125).

Na maioria dos estudos publicados, o diagnóstico de Aspergilose depende somente do teste rápido de GM, que é liberado durante a infecção. Autores citaram evidências sugerindo que a combinação do uso de GM com um ensaio de reação em cadeia da polimerase melhora a precisão do diagnóstico. No entanto, algumas evidências sugerem que a combinação de GM e BDG também melhoram o desempenho diagnóstico em casos de doença fúngica invasiva. Todavia, alguns centros com populações de risco não utilizam testes com alta frequência por várias razões, incluindo o fato da sensibilidade da GM é reduzida quando o paciente está em uso concomitante de antifúngicos (68,125) .

**Tabela 3.** Critérios de diagnóstico para Aspergilose

<b>Classificação</b>	<b>ECMM/ISHAM(79)</b>	<b>EORTC/MSG(121)</b>	<b>AspICU(122)</b>	<b>AspICU Modificado(126)</b>
<b>Comprovada</b>	dano tecidual evidenciado em histopatologia <b>ou</b> cultura positiva <b>ou</b> PCR combinado com sequenciamento de DNA <b>ou</b> combinação	dano tecidual evidenciado em histopatologia <b>ou</b> cultura positiva	dano tecidual evidenciado em histopatologia <b>ou</b> cultura positiva	dano tecidual evidenciado em histopatologia <b>ou</b> cultura positiva
<b>Provável</b>	Clínico: febre refratária à antibioticoterapia, dor torácica, dispneia e hemoptise; <b>e</b> Radiológico: infiltrado pulmonar ou infiltrado cavitante ou ambos; <b>e</b> Micológico: amostras positivas <sup>c</sup>	Clínico com um dos fatores hospedeiros <sup>a</sup> ; <b>e</b> Radiológicos: lesões densas e bem circunscritas com/sem sinal do halo, sinal do crescente aéreo, cavitações, consolidação ou segmentar; <b>e</b> Micológico: teste direto ou indireto <sup>b</sup>	NA	Todos os fatores para putativo <b>e</b> mais um biomarcador sérico positivo
<b>Possível</b>	Clínico: febre refratária à antibioticoterapia, dor torácica/atrito pleurítico, dispneia e hemoptise; <b>e</b> Radiológico: infiltrado pulmonar ou infiltrado cavitante ou ambos; <b>e</b> Micológico: amostras positivas <sup>d</sup>		NA	
<b>Putativa</b>	NA	NA	Clínico com um dos fatores hospedeiros <sup>e</sup> ; <b>e</b> Radiológico: radiografia ou tomografia de tórax anormal; <b>ou</b> Micológico: amostra positiva <sup>f</sup> ou cultura de LBA positiva na ausência de crescimento bacteriano	Clínico com um dos fatores hospedeiros <sup>e</sup> ; <b>e</b> Radiológico: radiografia ou tomografia de tórax anormal; <b>ou</b> Micológico: amostra positiva <sup>f</sup> ou cultura de LBA/PCR positiva na ausência de crescimento bacteriano

Abreviaturas: AspICU - Aspergillus na Unidade de Terapia Intensiva; LBA - lavado broncoalveolar; ECMM/ISHAM - Confederação Europeia de Micologia Médica e Sociedade Internacional de Micologia Humana e Animal; EORTC/MSGERC - Grupo de Estudos da Organização Europeia para a Investigação e Tratamento do Câncer/Micoses Consórcio de Educação e Investigação; GM- galactomanana; ETA – aspirado endotraqueal; PCR – reação de cadeia polimerase; n-LAB - lavagem não broncoscópica;

<sup>a</sup> neutropenia grave, transplante alogênico de células-tronco ou órgão sólido, terapia com corticosteroides, doença hematológica maligna, imunodeficiência congênita/hereditária/adquirida, tratamento com imunossuppressores de células T/células B;

<sup>b</sup> teste direto positivo (cultura/microscopia no escarro, ETA e LBA ou/e PCR positivo no LBA ou soro), OU teste indireto positivo GM sérica ou LBA);

<sup>c</sup> amostra positiva de LBA ou cultura positiva de LBA ou GM >1,0 no LBA ou GM sérica >0,5 ou amostra sérica positiva e PCR de LBA ou PCR de amostra sérica positiva duas vezes ou a combinação desses;

<sup>d</sup> amostra positiva de n-LAB ou cultura positiva de n-LAB ou GM n-LAB >4,5 ou positiva duas vezes com índice de GM >1,2 ou positivo GM >1,2 com PCR de n-LAB ou a combinação desses;

<sup>e</sup> febre refratária mesmo após 3 dias de antibioticoterapia, febre recrudescente de pelo menos 48h apesar da antibioticoterapia, dor torácica, dispneia, hemoptise, agravamento da insuficiência respiratória apesar da antibioticoterapia e suporte ventilatório;

<sup>f</sup> amostra positiva do trato respiratório inferior em paciente com fatores de risco do hospedeiro (neutropenia grave, malignidade hematológica/oncológica tratado com agentes citotóxicos, terapia com corticóides, imunodeficiência congênita/adquirida), ou cultura de LBA semiquantitativa positiva na ausência de crescimento bacteriano.



#### 1.7.4 CAPA: Incidência no mundo

Há semelhanças entre IAPA e CAPA como a alta prevalência em estudos e ausência de fatores clássicos do hospedeiro para infecção fúngica invasiva. Ainda não está claro se o principal fator de risco para CAPA é em si o próprio SARS-CoV-2 ou se fatores adicionais como tratamento com drogas imunomoduladoras aumentam o risco de progressão da doença associada (75). Um estudo de coorte prospectivo com 108 pacientes diagnosticados com COVID-19 evidenciou uma mortalidade maior em 30 dias em pacientes com CAPA do que sem CAPA. Pacientes com COVID-19 submetidos a VM e internação em UTI abrigam fatores negativos em relação à sobrevida, deixando mais susceptível a infecção fúngica relatada (127).

Essa infecção secundária predispõe os pacientes com COVID-19 à deterioração clínica e mortalidade. Estudos relatam prevalências variadas de 8 a 30% em amostras de pacientes em VM, o que aumenta o risco de desenvolvimento de CAPA de 8% a 34% e está associado a uma taxa de mortalidade de 36%. Uma meta-análise relatou que CAPA contribuiu substancialmente para uma alta incidência estimada de 10.2% e mortalidade de 54.9% (83,95,128).

Uma revisão sistemática de autópsias de pacientes com COVID-19 publicada em agosto de 2021 relatou doença de mofo invasivo (DMI) em 11 relatos no mundo, sendo oito CAPA, uma mucormicose disseminada e duas não específicas. Os autores chegaram à conclusão de que Aspergilose é um achado incomum, seis (2%) casos foram comprovados. As taxas de DMI comprovadas por autópsia são consideravelmente baixas, quando comparadas com as taxas de incidência em estudos sobre CAPA e sugerem que altas taxas publicadas em estudos de coorte podem ser relacionadas com os métodos de diagnóstico aplicados (129).

Um relato *postmortem* de um caso em Manaus, demonstrou a importância de considerar API em pacientes com COVID-19 em paciente sem comprometimento clínico claro relacionado à API durante a hospitalização. Não é uma infecção incomum em pacientes imunocomprometidos e é uma complicação bem descrita. Evidenciando que o papel das autópsias é de suma importância como forma de vigilância *postmortem*, visto que o atual cenário da pandemia não permite que as formas ideais de diagnóstico sejam realizadas devido aos riscos já citados (130).

Estudos mostraram que as infecções fúngicas secundárias foram relatadas com mais frequência em pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2. Relatórios subsequentes da Europa indicaram que a Aspergilose Pulmonar pode ser associada com a COVID-19 nas formas graves. Devido às questões de biossegurança, poucos laboratórios de patologia no mundo foram capazes de realizar autópsias completas de pacientes acometidos pelo SARS-CoV-2 e Manaus ofereceu uma oportunidade única para investigar o perfil específico de mortes por *Aspergillus* spp. em pacientes infectados com SARS-CoV-2 em um ambiente hospitalar que foi referência para casos de SRAG/COVID-19 na Região Norte. A profilaxia e manejo da doença em tempo hábil podem diminuir a taxa de mortalidade da população em estudo, sendo importante estabelecer a sua real prevalência para não expor pacientes a tratamentos antifúngicos excessivos, que pode selecionar infecções por outros agentes biológicos.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Estimar a incidência de Aspergilose Pulmonar Associada a COVID-19 em pacientes falecidos no período de abril a julho de 2020 e submetidos a exames *postmortem*, em um Centro de Referência para COVID-19 em Manaus, Amazonas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Local do estudo

O Hospital Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz (HPSDRAA) tornou-se a unidade de referência no Amazonas em 19 de abril de 2020 para tratamento do novo coronavírus. Localizado na zona norte de Manaus, esta unidade possuía 50 leitos de terapia intensiva instalados, com a possibilidade de ampliação para até 350 leitos, conforme necessidade no período no qual o estudo foi realizado.

#### 3.2 Desenho do estudo

Estudo transversal retrospectivo de participantes diagnosticados com Aspergilose Pulmonar *postmortem*, atendidos no HPSDRAA, com dados das autópsias realizadas e dados secundários anonimizados oriundos do sistema de prontuário eletrônico do HPSDRAA (*MedView* – documento fonte).

#### 3.3 População de estudo

A população deste estudo foi composta por participantes de pesquisa incluídos no ensaio clínico “Estudo de fase IIb para avaliar eficácia e segurança do difosfato de cloroquina no tratamento de pacientes hospitalizados com síndrome respiratória grave no âmbito do novo coronavírus (SARS-CoV2): um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado (CloroCOVID-19)”. Em suma, adultos, com idade igual ou superior a 18 anos, hospitalizados no HPSDRAA e que apresentaram sintomas de SRAG.

#### 3.4 Critérios de elegibilidade

a) Critérios de inclusão

Participantes que tenham sido incluídos no estudo mencionado no item 3.3, confirmados com COVID-19 e que foram submetidos ao exame *postmortem*.

b) Critérios de exclusão

Pacientes que não tenham sido confirmados com SARS-CoV-2.

### **3.5 Plano amostral**

Como se trata de um projeto que utilizou dados secundários de um ensaio clínico já realizado, tem-se uma amostra de conveniência de 50 participantes, com COVID-19 positivo, que tiveram como desfecho o óbito e que após o consentimento concedido pelos responsáveis legais, foram submetidos a autópsia.

### **3.6 Recrutamento e processo de consentimento**

Os esforços de recrutamento incluíram a disseminação de informações sobre o ensaio clínico citado no item 3.3, a equipe de saúde da unidade hospitalar. Os potenciais participantes com síndrome respiratória foram avaliados quanto à elegibilidade. A triagem iniciou com uma breve discussão com a equipe do estudo. As informações sobre o estudo foram apresentadas a possíveis participantes (ou representante legalmente autorizado) e perguntas foram feitas para determinar possível elegibilidade.

O consentimento informado é um processo iniciado antes de um indivíduo concordar em participar de um estudo e continuar durante toda a participação do indivíduo. A equipe de enfermagem designada obteve o consentimento informado dos participantes da pesquisa. As principais informações sobre o estudo foram organizadas e apresentadas em terminologia leiga e linguagem que facilitasse o entendimento por alguém que pode ou não querer participar. Os participantes receberam uma apresentação concisa e focada das principais informações sobre o ensaio clínico, verbalmente e com consentimento por escrito.

O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) e de autópsia foram aprovados pela CONEP (anexos 2, 3 e 4). Foi dado tempo suficiente para sua leitura, bem como oportunidades para realizarem questionamentos referentes ao estudo. Os participantes ou representantes legalmente autorizados assinaram o TCLE antes de iniciar quaisquer procedimentos de estudo sendo feitos especificamente para este estudo. Depois de assinado, uma via foi arquivada com a equipe do estudo e a outra entregue ao participante ou representante legal.

### 3.7 Coleta de dados

Para estimar a incidência de CAPA, foram analisados dados obtidos através das seguintes metodologias que confirmaram a presença da infecção fúngica.

#### 3.7.1 Autópsia Pulmonar

A autópsia é uma técnica padrão ouro para determinar a verdadeira causa de morte. Esta foi realizada por uma médica patologista e auxiliada por técnicos treinados. A técnica consiste em dissecação completa dos corpos, avaliação macroscópica de cada órgão, com documentação fotográfica e coleta de amostras para análise histológica de todas as lesões macroscópicas identificadas. A autópsia de fragmentos pulmonares consistiu na retirada de dois fragmentos de cada lobo pulmonar onde possuíam alterações macroscopicamente evidenciáveis. Em casos em que não tinham alterações, foram retirados os dois fragmentos aleatórios.

As autópsias foram realizadas dentro de um prazo de até 12 horas após a morte e antes do procedimento, o corpo foi embalsamado com formaldeído a 10%. Após esses procedimentos, as incisões foram fechadas com suturas, o corpo foi lavado, vestido e entregue para a família.

Os procedimentos citados seguiram protocolos já estabelecidos e adaptados conforme medidas de segurança para Covid-19 (88,89).

#### 3.7.2 Análise histopatológica

As amostras foram fixadas em formalina tamponada neutra a 10%, embebidas em blocos de parafina e congeladas por um período de uma hora. Após isso, os respectivos blocos foram submetidos a cortes em micrótomo na espessura de 5µm e coradas com hematoxilina e eosina. Posteriormente, foram observadas em microscopia óptica de campo claro. Para confirmação de agentes fúngicos foi realizada uma coloração com Grocott-Gomori (GMS), onde foi possível evidenciar as estruturas fúngicas de *Aspergillus*. Todos os casos foram examinados por dois patologistas diferentes, em caso de discrepância, uma reunião de julgamento foi realizada e um consenso foi alcançado (132)

### 3.7.3 PCR e Sequenciamento da amostra de tecido pulmonar

Para esta metodologia, foi realizada a desparafinização do bloco contendo fragmentos do tecido pulmonar. A extração de DNA realizada por kit *DNeasy Blood & Tissue - QIAGEN*, seguindo o protocolo recomendado pelo fabricante (133). As reações de amplificação foram realizadas nas condições expostas na tabela 4. O achado histopatológico de *Aspergillus* spp. foi confirmado por sequenciamento de nucleotídeos. O espaçador interno transcrito 1 (ITS1) e regiões ITS2 e o DNA ribossomal 5.8S (rDNA) foram amplificados por reação em cadeia da polimerase usando os iniciadores universais ITS1 e ITS4, conforme descrito em por Muñoz-Cavidade C e colaboradores (90).

O sequenciamento foi realizado usando o sequenciamento de ciclo BigDye® Terminator v3.1 (aplicado Biosystems) e os primers acima individualmente. Somente as melhores sequências foram usadas para realizar a montagem dos contigs e realizar análises comparativas com o banco de dados GenBank usando a Ferramenta Básica de Pesquisa de Alinhamento Local.

**Tabela 4.** Etapas da PCR

Etapas	Temperatura - Tempo
Desnaturação das fitas de DNA	94°C – 5min
Ligação dos primers a fita de DNA	30-65°C – 30 seg
Sintetização de novas fitas de DNA	65-75°C – 2-5 min
Desnaturação para separar novamente as fitas	94°C – 30 seg.

### 3.7.4 Detecção de galactomanana

A detecção de GM é um teste que pode ser utilizado no auxílio diagnóstico de Aspergilose Invasiva quando usado em conjunto com outros métodos como cultura microbiológica, exame histológico e de imagem.

Para detecção do antígeno fúngico foi realizado o ensaio imunoenzimático *Platelia*™ *Aspergillus* Ag. É um ensaio de microplaca sanduíche imunoenzimático de um estágio que

detecta GM em soro e fluido LBA. Foram utilizados 300uL de soro com vírus inativado e posteriormente adicionados aos poços revestidos com anticorpo monoclonal – GM. O complexo anticorpo monoclonal / peroxidase é formado na presença do antígeno GM (135).

A presença ou ausência de antígeno de GM na amostra de teste é determinada pelo cálculo de um índice para cada amostra de paciente. O ensaio imunoenzimático para detecção do antígeno GM em amostras séricas e lavado broncoalveolar (LBA), quando usado em conjunto com outros métodos diagnósticos já mencionados anteriormente, também auxiliam no diagnóstico de Aspergilose Invasiva.

### **3.8 Coleta e armazenamento de dados**

Foram padronizados formulários de coletas de dados, fornecidos como documentos fonte e mantidos para registro de dados para cada participante dos estudos. Os dados clínicos e laboratoriais foram obtidos por meio do sistema de prontuário eletrônico *MedView*, e através das fichas de coleta de dados utilizadas pela equipe de enfermagem e fisioterapia, sendo armazenados no sistema de Captura Eletrônica de Dados de Pesquisa (REDCap), que é um sistema de entrada de dados da Internet (IDES), inclui criptografia, proteção por senha e controle interno de qualidade, como verificações automáticas de intervalo, para identificar dados que parecem inconsistentes, incompletos ou imprecisos, usando o servidor da FMT-HVD.

### **3.9 Análise estatística**

Este é um estudo descritivo, cuja incidência de CAPA foi calculada, sendo considerada a razão entre o número de pacientes com Aspergilose e o total de pacientes autopsiados.

### **3.10 Aspectos éticos**

Este estudo foi aprovado pela CONEP (CAAE: 30152620.1.0000.0005) (anexo 1). O termo de consentimento para autópsia foi aplicado aos responsáveis legais. Todas as medidas foram realizadas para assegurar a manutenção da confidencialidade das informações dos participantes e os princípios das Boas Práticas Clínicas.



#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

É produto desta dissertação o artigo: Farias ME, Santana MF, Ferreira L, Borba M, Silva-Neto J, Brito-Sousa JD, Baía-da-Silva DC, João GP, Val F, Simão M, Souza JV, Naveca F, Melo G, Monteiro W, Lacerda M. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in a Series of Complete Autopsies from the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg.* 2022 Jan 7:tpmd211009. doi: 10.4269/ajtmh.21-1009. Epub ahead of print. PMID: 34996046. Link: <https://www.ajtmh.org/view/journals/tpmd/106/2/article-p571.xml>

#### **COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in a series of complete autopsies from the Brazilian Amazon**

Maria Eduarda Farias<sup>1,2</sup>, Monique Freire Santana<sup>1,3,4</sup>, Luiz Ferreira<sup>1,3,5</sup>,

Mayla Borba<sup>3</sup>, João Silva-Neto<sup>1</sup>, José Diego Brito-Sousa<sup>1,3</sup>, Djane Clarys Baía-da-Silva<sup>1,2,3</sup>,  
Guilherme Pivoto João<sup>3</sup>, Fernando Val<sup>1,3</sup>, Mariana Simão<sup>1</sup>, João Vicente Souza<sup>6</sup>,

Felipe Naveca<sup>2</sup>, Gisely Melo<sup>1,3</sup>, Wuelton Monteiro<sup>1,3</sup>, Marcus Lacerda<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> *Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil*

<sup>2</sup> *Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, Brazil*

<sup>3</sup> *Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil*

<sup>4</sup> *Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas, Manaus, Brazil*

<sup>5</sup> *Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil*

<sup>6</sup> *Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil*

\*Address correspondence to Marcus V G Lacerda

Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado, Av Pedro Teixeira 25, Manaus, Amazonas, 69040-000, Brazil.

E-mail: [marcuslacerda.br@gmail.com](mailto:marcuslacerda.br@gmail.com)

## **Abstract**

Between April and July 2020, and therefore, prior to the broad recommendation of corticosteroids for severe COVID-19, a total of 50 full autopsies were performed in Manaus. We confirmed two invasive aspergillosis cases through histopathology and gene sequencing (4%) in our autopsy series. The confirmed invasive aspergillosis incidence seems much lower than expected on the 'probable and possible' definitions, and an individualized approach should be considered for each country scenario. Interestingly, the prolonged length of stay in the ICU was not observed in any of the cases. Timely diagnosis and treatment of fungal infection can reduce mortality rates.

Secondary infections reported in SARS-CoV-2-infected patients, such as Invasive Mould Disease (IMD), have been well documented in influenza patients, in whom they lead to clinical deterioration and mortality and require intensive care (1). But there is uncertainty in the literature about whether COVID-19 predisposes to such invasive fungal diseases (2).

The attempt to estimate the frequency of IMD using the gold standard method, i.e., *post-mortem* exam, showed an IMD worldwide average of 2%, with predominance of COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis (CAPA), in a systematic review of autopsies performed in COVID-19 deceased patients (3). However, confidence intervals were obviously wide due to the limited number of autopsies performed and varying regional incidence.

This review only included two collated studies from Latin America, with 16 minimally invasive autopsies (MIA) from Southern Brazil, in which no IMD was reported (4-5). In Manaus, one of the first Brazilian capitals to suffer the health system collapse triggered by the first wave of COVID-19, in April 2020, a series of complete diagnostic autopsies were performed in a referral unit. Informed consent was signed by legal representatives. The identification of species through molecular methodologies was carried out according to the same methodology described elsewhere (6).

Between April and July 2020, and therefore, prior to the broad recommendation of corticosteroids for severe COVID-19, a total of 50 full autopsies were performed (unpublished data). All autopsies presented a clinical picture of severe respiratory distress. In addition, SARS-CoV-2 infection was confirmed in 39 (78%) by reverse transcriptase quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR), and in 11 (22%) by positive IgM. Out of the 50 autopsies, one COVID-19 patient with identification of *Aspergillus penicillioides* had been reported elsewhere (6) (Case 1). Here we also report the second case, in which *Aspergillus sp.* was identified (Case 2). We have therefore confirmed two invasive CAPA cases through histopathology and gene sequencing (2/50; 4%) in our autopsy series. Clinical characteristics are presented in the Table. In the Figure, histopathology of both patients' lungs is shown. Both patients also tested positive for galactomannan (GM) antigen in the serum. No fungal extrapulmonary lesions were seen. Systematic sampling of macroscopic pulmonary lesions during cleavage was performed. No mucormycosis was diagnosed in this series, although such complication was reported in a COVID-19 patient from Manaus (7). None of the patients used corticosteroids, tocilizumab, or any other immunomodulator, nor antifungal drugs.

In the overall series of 50 autopsied patients, no *Histoplasma capsulatum* was seen, and one patient evolved with candidemia. Out of the 50, 43 were hospitalized in ICU, varying from 1 to 30 days (average 9.8 days). Surprisingly, both patients with CAPA stayed in ICU only 3 and 7 days.

The difficulty in diagnosing associated pulmonary diseases in COVID-19 patients due to biosafety reasons complicates management of critically ill patients. This was particularly the case in the first half of 2020, when not much was known about the new SARS-CoV-2 infection, and health systems were collapsed. Bronchoscopy and serological biomarkers-based diagnosis (such as GM), proposed by the European Confederation for Medical Mycology and the International Society for Human and Animal Mycology (ECMM/ISHAM) 2020 consensus (9), even under the best biosafety practices, are burdensome and not feasible in most low-income countries, impacting on possible diagnosis and leading to the underestimation of CAPA incidence.

On the other hand, even before these guidelines were published, the use of a Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically ill Patients (AspICU), the putative diagnosis and extrapolated definitions for influenza-related invasive aspergillosis

(10) could result in overestimating CAPA incidence due to difficulty in distinguishing colonization from infection. Studies have reported worldwide incidences ranging from 8 to 34% in samples from patients under mechanical ventilation (10). A meta-analysis reported that CAPA presented with fatality rate of 54.9% in ICU (10).

Brazil, with a vast continental territory, has diverse epidemiological scenarios. The finding of 4% CAPA incidence in our autopsy series may reflect a better sensitivity of full autopsy analysis, because scattered *Aspergillus*-related lesions may challenge diagnosis when MIA is performed. Alternatively, there may be a local higher CAPA incidence in the Amazon compared to Southern Brazilian states.

Our finding (4% CAPA incidence) seems to be in the same confidence interval of the meta-analysis published elsewhere (2%) (3). However, this relatively low incidence should not discourage *Aspergillus* clinical/radiological suspicion in critically ill COVID-19 patients, because coinfection may lead to increased fatality rates. We do not believe that CAPA was a key contributor to the high fatality rates seen in Manaus, which were probably a mere reflex of the lack of preparedness. CAPA incidence confirmed by autopsies seems much lower than expected on the ‘probable and possible’ definitions, and an individualized approach should be considered for each country scenario. Timely diagnosis and treatment of fungal infection can reduce mortality rates, especially in older patients with underlying diseases. Universal presumptive treatment is still a matter of debate.

### **Conflict of interest**

The authors declare no conflict of interest.

### **Acknowledgments**

The authors thank the staff of the Pathology Department of *Universidade Federal do Amazonas* and *Hospital e Pronto-Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz*.

### **Funding**

This study was funded by *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior* (CAPES), *Departamento de Ciência e Tecnologia/Ministério da Saúde* (DECIT), *Ministério*

*da Ciência, Tecnologia e Inovações (MCTI), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, grant 403253/2020-9), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas (FAPEAM), Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical (PPGMT) and Pró-Estado public calls. MVGL and WMM are CNPq fellows*

## References

1. Schauwvlieghe AFAD, Rijnders BJA, Philips N, Verwijs R, Vanderbeke L, van Tienen C, et al. Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2018;6(10):782-792
2. Segrelles-Calvo G, Araújo GRS A, Llopis-Pastor E, Carrillo J, Hernández-Hernández M et al.. Prevalence of opportunistic invasive aspergillosis in COVID-19 patients with severe pneumonia. *Mycoses*. 2021;64(2):144–51.
3. Kula BE, Clancy CJ, Nguyen MH, Schawartz I. Invasive mould disease in fatal COVID-19: a systematic review of autopsies. *The Lancet Microbe*. 2021;2(8):e405–14.
4. Duarte-Neto A, Monteiro RAA, Silva LFF, Malheiros DMAC, Oliveira EP et al. Pulmonary and systemic involvement in COVID-19 patients assessed with ultrasound-guided minimally invasive autopsy. *Histopathology*.2020;77(2):186–97.
5. Nagashima S, Mendes MC, Martins APC, Borges NH, Godoy TM et al. Endothelial Dysfunction and Thrombosis in Patients With COVID-19-Brief Report. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2020;40(10):2404–7.
6. Santana MF, Pivoto G, Alexandre MAA, Baía-Da-silva DC, Borba MG da S, Val FA, et al. Confirmed invasive pulmonary aspergillosis and COVID-19: The value of postmortem findings to support antemortem management. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2020;53(June):1–4.
7. Bonates P, João GAP, Cruz KS, Ferreira M de S, Baía-da-Silva DC, Farias MEL de, et al. Fatal rhino-orbito-cerebral mucormycosis infection associated with diabetic ketoacidosis post-COVID-19. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 2021;54.

8. Permpalung N, Maertens J, Marr KA. Diagnostic dilemma in COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021;3099(21):3099.
9. Alanio A, Dellière S, Fodil S, Bretagne S, Mégarbane B. Prevalence of putative invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(6):e48–9.
10. Mitaka H, Kuno T, Takagi H, Patrawalla P. Incidence and Mortality of COVID-19-associated Pulmonary Aspergillosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Mycoses, diagnosis, therapy and prophylaxis of Fungal Diseases*. 2021;0–23.

## FIGURES

**Figura 5.**

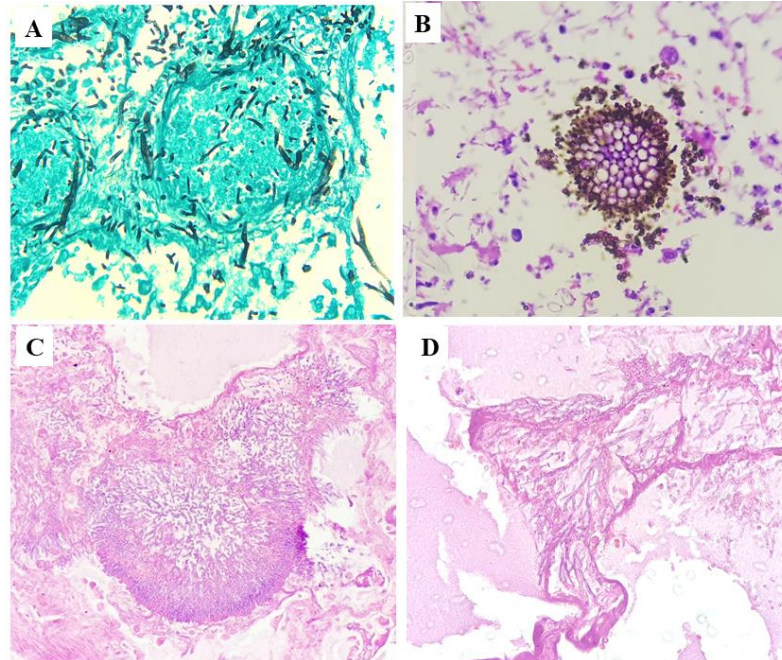


Figure: Histopathology of the lungs of the two CAPA cases. A) Numerous hyphae and fungal spores. B) *Aspergillus* head, allowing the visualization of phialides and conidia, with numerous fungal spores. C) Numerous hyphae and fungal spores. Microscopic cavitation surrounded by numerous hyphae and fungal spores. D) Presence of fungal hyphae compatible with *Aspergillus* sp.

**TABLE 1**

**Tabela 5**

TABLE 1  
Clinical aspects of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in a series of autopsies

Case no.	Age, y/gender	Comorbidities	Hospitalization, d	ICU, d	MV, d	Imaging exam findings	Sequencing identified (qPCR) lung tissue	GM serum stored blood	Anticoagulant	Attributed cause of death	Radiological characteristics
1	71/male	Systemic arterial hypertension, diabetes mellitus, current smoker, alcoholism, chronic kidney disease	3	3	3	Infiltrate and nodular consolidation in the right lower lobe (chest X-rays)	<i>Aspergillus penicillioides</i>	4.29	Yes	Respiratory failure	Ground-glass nodules and subpleural consolidation
2	35/male	Obesity, alcoholism	7	7	7	Bilateral ground-glass infiltrate, bilateral consolidation, pleural effusion (CT scan)	<i>Aspergillus</i> spp.	3.62	Yes	Multiple-organ dysfunction syndrome	Bilateral infiltrate with extensive parenchymal opacities

CT = computed tomography; GM = galactomannan; ICU = intensive care unit; MV = mechanical ventilation; qPCR = quantitative polymerase chain reaction.

## 5. LIMITAÇÕES DA PESQUISA E PERSPECTIVAS

Este estudo possui limitações, entre elas:

- Número de pacientes relativamente baixo. Contudo, é importante destacar que durante a primeira onda de COVID-19 no Amazonas, período correspondente as coletas deste estudo, autópsias não eram recomendadas;

- Não realização de culturas de lavados broncoalveolares ou do tecido pulmonar. Lavados broncoalveolares e pulmonares não eram recomendados. Cultivo de tecido pulmonar não foi realizado, visto ausência de suspeita de outras infecções virais e bacterianas;

- Ausência de testes sorológicos para determinação da infecção fúngica durante as hospitalizações podem ter ajudado na subnotificação dos casos de Aspergilose, em especial, em casos resolutivos da infecção.

- Ausência de relato de suspeitas de infecção fúngica por *Aspergillus*.

São perspectivas futuras deste estudo:

- Avaliar amostras de pacientes autopsiados durante as demais ondas pandêmicas que ocorreram após o período da coleta deste estudo em Manaus, para avaliação da incidência e desfechos;

- Avaliar, através de outras metodologias não tão invasivas em pacientes hospitalizados, incidência e desfechos da coinfeção;

- Determinar a diversidade de fungos causadores de Aspergilose em pacientes com COVID-19 e sua filogenética.



## 6. CONCLUSÃO

A incidência de CAPA (4%) neste estudo é baixa e semelhante a de outros estudos publicados mundialmente. Contudo, essa incidência relativamente baixa não deve desencorajar a suspeita clínica/radiológica de *Aspergillus* em pacientes criticamente enfermos com COVID-19, já que a coinfeção pode levar ao aumento da mortalidade, embora acredite-se que CAPA não tenha sido um dos principais contribuintes para as altas taxas de mortalidade em Manaus. Além disso, é importante considerar que a incidência de CAPA confirmada por autópsias parece muito menor do que as disponíveis a partir das definições de 'provável e possível', e uma abordagem individualizada deve ser considerada para cada cenário de país. O diagnóstico e o tratamento oportunos da infecção fúngica são extremamente importantes para redução da morbimortalidade, especialmente em idosos com doenças subjacentes, contudo, o tratamento presuntivo universal ainda é uma questão de debate.

## 7. REFERÊNCIAS

1. Maier HJ, Bickerton E. Coronaviruses Methods and Protocols Second Edition Methods in Molecular Biology 2203. 2020. 273 p.
2. Habibzadeh P, Stoneman EK. The novel coronavirus: A bird's eye view. *International Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2020;11(2):65–71.
3. Gulati A, Pomeranz C, Qamar Z, Thomas S, Frisch D, George G, et al. A Comprehensive Review of Manifestations of Novel Coronaviruses in the Context of Deadly COVID-19 Global Pandemic. *American Journal of the Medical Sciences [Internet]*. 2020;360(1):5–34. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.amjms.2020.05.006>
4. Vellas C, Delobel P, de Souto Barreto P, Izopet J. COVID-19, Virology and Geroscience: A Perspective. *Journal of Nutrition, Health and Aging*. 2020;24(7):685–91.
5. Wiersinga WJ, Rhodes A, Cheng AC, Peacock SJ, Prescott HC. Pathophysiology, Transmission, Diagnosis, and Treatment of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19): A Review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2020;324(8):782–93.
6. Singhal T. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). *Indian Journal of Pediatrics*. 2020;87(4):281–6.
7. Li H, Liu SM, Yu XH, Tang SL, Tang CK. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): current status and future perspectives. *International Journal of Antimicrobial Agents [Internet]*. 2020;55(5):105951. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105951>
8. Rodrigues TS, de Sá KSG, Ishimoto AY, Becerra A, Oliveira S, Almeida L, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-cov-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *Journal of Experimental Medicine*. 2020;218(3).
9. Alsharif W, Qurashi A. Effectiveness of COVID-19 diagnosis and management tools: A review. Vol. 27, *Radiography*. W.B. Saunders Ltd; 2021. p. 682–7.

10. Pascarella G, Strumia A, Piliago C, Bruno F, del Buono R, Costa F, et al. COVID-19 diagnosis and management: a comprehensive review. *Journal of Internal Medicine*. 2020;288(2):192–206.
11. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico N° 102 - Boletim COE Coronavírus. 2022;
12. Bitar S, Steinmetz WA. Scenarios for the Spread of COVID-19 in Manaus, Northern Brazil. 2020. p. 1 of 5.
13. Fundação de Vigilância em Saúde do Amazonas Dra Rosemary Costa Pinto. CORONAVÍRUS. Situação Epidemiológica da Covid-19 no estado do Amazonas, 2021. 2021;(32).
14. Cascella M, Rajnik M, Aleem A, Dulebohn SC, Di R, Afilições N. Features, Evaluation, and Treatment of Coronavirus (COVID-19) [Internet]. 2022. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/?report=printable>
15. World Health Organization. Tracking SARS-CoV-2 variants. 2022.
16. Haque A, Pant AB. Mitigating Covid-19 in the face of emerging virus variants, breakthrough infections and vaccine hesitancy. *Journal of Autoimmunity* [Internet]. 2022 Feb;127:102792. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841121002006>
17. He D, Artzy-randrup Y, Musa SS, Stone L. The unexpected dynamics of COVID-19 in Manaus , Brazil : Herd immunity versus interventions. 2021;(December 2020).
18. Thiagarajan K. Why is India having a covid-19 surge ? 2021;(April):10–2.
19. Vaidyanathan G. Coronavirus variants are spreading in India — what scientists know so far. *Nature*. 2021;1–9.
20. SRIVASTAVA S, BANU S, SINGH P, SOWPATI DT, MISHRA RK. SARS-CoV-2 genomics : An Indian perspective on sequencing viral variants. *J Biosci*. 2021;46(22).
21. Arif T Bin. Letter to the Editor 501.V2 and B.1.1.7 variants of COVID-19: A new time-bomb in the making? *Infection Control and Hospital Epidemiology*. 2020;2019:1–2.

22. Naveca F, Nascimento V, Souza V, Corado A, Costa C, Nascimento F. COVID-19 epidemic in the Brazilian state of Amazonas was driven by long-term persistence of endemic SARS-CoV-2 lineages and the recent emergence of the new Variant of Concern P . 1. 2021;1–21.
23. Sumika F, Souza H De, Satchiko N, Souza H, Maciel C, Guidoni DL. Second wave of COVID - 19 in Brazil : younger at higher risk. *European Journal of Epidemiology*. 2021;36(4):441–3.
24. Kannan SR, Spratt AN, Sharma K, Chand HS, Byrareddy SN, Singh K. Omicron SARS-CoV-2 variant: Unique features and their impact on pre-existing antibodies. *Journal of Autoimmunity* [Internet]. 2022 Jan;126:102779. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0896841121001876>
25. Dubey A, Choudhary S, Kumar P, Tomar S. Emerging SARS-CoV-2 Variants: Genetic Variability and Clinical Implications. *Current Microbiology* [Internet]. 2022 Jan 14;79(1):20. Available from: <https://link.springer.com/10.1007/s00284-021-02724-1>
26. Lai CKC, Lam W. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID- 19 . The COVID-19 resource centre is hosted on Elsevier Connect , the company ' s public news and information . 2020;(January).
27. Chhikara BS, Rathi B, Singh J, FNU P. Corona virus SARS-CoV-2 disease COVID-19: Infection, prevention and clinical advances of the prospective chemical drug therapeutics: A review on Corona Virus Disease COVID-19, epidemiology, prevention, and anticipated therapeutic advances. *Chemical Biology Letters* [Internet]. 2020;7(1):63–72. Available from: <http://thesciencein.org/journal/index.php/cbl/article/view/103>
28. Cevik M, Kuppalli K, Kindrachuk J, Peiris M. Virology, transmission, and pathogenesis of SARS-CoV-2. *The BMJ*. 2020;371:1–6.
29. Mohamadian M, Chiti H, Shoghli A, Parsamanesh N, Esmailzadeh A. COVID-19 : Virology , biology and novel laboratory diagnosis. 2021;(November 2020):1–11.
30. Jackson CB, Farzan M, Chen B, Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. Vol. 23, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. Nature Research; 2022. p. 3–20.

31. Cevik M, Bamford CGG, Ho A. COVID-19 pandemic—a focused review for clinicians. *Clinical Microbiology and Infection*. 2020;26(7):842–7.
32. Zarandi PK, Zinatizadeh MR, Zinatizadeh M, Yousefi MH, Rezaei N. SARS-CoV-2: From the pathogenesis to potential anti-viral treatments. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2021;137.
33. Gupta A, Madhavan M v., Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine* [Internet]. 2020;26(7):1017–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0968-3>
34. Charleen Yeo, Sanghvi Kaushal, Danson Yeo. Enteric involvement of coronaviruses: is faecal-oral transmission of SARS-CoV-2 possible? *Lancet Gastroenterol Hepatology*. 2020 Feb 1;71(2):456–62.
35. Kotlyar AM, Grechukhina O, Chen A, Popkhadze S, Grimshaw A, Tal O, et al. Vertical transmission of coronavirus disease 2019: a systematic review and meta-analysis. Vol. 224, *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. Mosby Inc.; 2021. p. 35-53.e3.
36. Rai P, Kumar BK, Deekshit VK, Karunasagar I, Karunasagar I. Detection technologies and recent developments in the diagnosis of COVID-19 infection. Vol. 105, *Applied Microbiology and Biotechnology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 441–55.
37. Lai CKC, Lam W. Laboratory testing for the diagnosis of COVID-19 Christopher. 2021;538(January):226–30.
38. Umakanthan S, Sahu P, Ranade A V, Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-machado LF, et al. Origin , transmission , diagnosis and management of coronavirus disease 2019 ( COVID-19 ). 2020;2019:753–8.
39. Chaimayo C, Kaewnaphan B, Tanlieng N, Athipanyasilp N, Sirijatuphat R. Rapid SARS - CoV - 2 antigen detection assay in comparison with real - time RT - PCR assay for laboratory diagnosis of COVID - 19 in Thailand. *Virology Journal*. 2020;1–7.
40. Yuce M, Filiztekin E, Ozkaya KG. COVID-19 diagnosis —A review of current methods. *Biosensors and Bioelectronics*. 2020;172(January):112752.

41. Almeida E, Silva T. SARS-COV-2: COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES TESTES DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - UMA REVISÃO ADAPTADA À REALIDADE PORTUGUESA. *Revista Científica da Escola Superior de Saúde Dr Lopes Dias do Instituto Politécnico de Castelo Branco - Edição especial - COVID-19.* 2021;9–17.
42. Zhang XY, Huang HJ, Zhuang DL, Nasser MI, Yang MH, Zhu P, et al. Biological, clinical and epidemiological features of COVID-19, SARS and MERS and AutoDock simulation of ACE2. *Infectious Diseases of Poverty.* 2020;9(1):1–11.
43. Ahmad M, Beg BM, Majeed A, Areej S, Riffat S, Rasheed MA, et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of COVID-19: A Retrospective Multi-Center Study in Pakistan. *Frontiers in Public Health.* 2021;9(April):1–8.
44. Zhu J, Zhong Z, Ji P, Li H, Li B, Pang J. Clinicopathological characteristics of 8697 patients with COVID-19 in China : a meta- analysis. 2020;1–11.
45. Hajjar LA, Bispo I, Costa S, Rizk SI, Biselli B, Gomes BR, et al. Intensive care management of patients with COVID - 19 : a practical approach. *Annals of Intensive Care [Internet].* 2021; Available from: <https://doi.org/10.1186/s13613-021-00820-w>
46. Mellado-Artigas R, Ferreyro BL, Angriman F, Hernández-Sanz M, Arruti E, Torres A, et al. High-flow nasal oxygen in patients with COVID-19-associated acute respiratory failure. *Critical Care.* 2021;25(1):1–10.
47. Salian VS, Wright JA, Vedell PT, Nair S, Li C, Kandimalla M, et al. COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. Vol. 18, *Molecular Pharmaceutics.* American Chemical Society; 2021. p. 754–71.
48. Guo Y-R, Cao Q-D, Hong Z-S, Tan Y-Y, Chen S-D, Jin H-J, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. *Mil Med Res.* 2020;7(11):10.
49. Song G, Liang G, Liu W. Fungal Co-infections Associated with Global COVID-19 Pandemic: A Clinical and Diagnostic Perspective from China. *Mycopathologia.* 2020;185(4):599–606.

50. Lai C-C, Wang C-Y, Hsueh P-R. Co-infections among patients with COVID- 19: The need for combination therapy with non-anti-SARS-CoV-2 agents? *Journal of Microbiolog.* 2020;53(May):505–12.
51. Lansbury L, Lim B, Baskaran V, Lim WS. Co-Infections in People with COVID-19: A Systematic Review and Meta-Analysis. *SSRN Electronic Journal.* 2020;(January).
52. Ripa M, Galli L, Poli A, Oltolini C, Spagnuolo V, Mastrangelo A, et al. Secondary infections in patients hospitalized with COVID-19: incidence and predictive factors. *Clinical Microbiology and Infection.* 2020;27(October):451–7.
53. The RECOVERY Collaborative Group. Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine.* 2021;384(8):693–704.
54. Jeronimo CMP, Farias MEL, Val FFA, Sampaio VS, Alexandre MAA, Melo GC, et al. Methylprednisolone as Adjunctive Therapy for Patients Hospitalized With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19; Metcovid): A Randomized, Double-blind, Phase IIb, Placebo-controlled Trial. *Clinical Infectious Diseases.* 2020;2019(Xx):1–9.
55. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M, Rinaldi M, Maccaro A, Bussini L, et al. Epidemiology of Invasive Pulmonary Aspergillosis Among Intubated Patients With COVID-19: A Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases.* 2020;(Xx):1–9.
56. John TM, Jacob CN, Kontoyiannis DP. When Uncontrolled Diabetes Mellitus and Severe COVID-19 Converge : The Perfect Storm for Mucormycosis. *Journal of Fungi.* 2021;(7):298.
57. Sen M, Lahane S, Lahane TP, Parekh R, Honavar SG. Mucor in a Viral Land : A Tale of Two Pathogens. *Indian Journal of Ophthalmology.* 2021;(2).
58. Ray SK, Mukherjee S. COVID-19-Associated Mucormycosis, A New Incident in Recent Time: Is An Emerging Disease in The Near Future Impending? *Avicenna Journal of Medicine.* 2021 Oct;11(04):210–6.
59. Al-Tawfiq JA, Alhumaid S, Alshukairi AN, Temsah MH, Barry M, al Mutair A, et al. COVID-19 and mucormycosis superinfection: the perfect storm. Vol. 49, *Infection.* Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2021. p. 833–53.

60. Bonates P, João GAP, Cruz KS, Ferreira M de S, Baía-Da-silva DC, de Farias MEL, et al. Fatal rhino-orbito-cerebral mucormycosis infection associated with diabetic ketoacidosis post-covid-19. Vol. 54, Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2021.
61. Zurl C, Hoenigl M, Schulz E, Hatzl S, Gorkiewicz G, Krause R, et al. Autopsy Proven Pulmonary Mucormycosis Due to *Rhizopus microsporus* in a Critically Ill COVID-19 Patient with Underlying Hematological Malignancy. 2021;0–3.
62. Salazar F, Bignell E, Brown GD, Cook PC, Warris A. Pathogenesis of Respiratory Viral and Fungal Coinfections. 2021; Available from: <https://doi.org/10.1128/CMR>
63. Michaelia Fosses Vuong A, Waymack Affiliations JR. Aspergillosis [Internet]. Illinois; 2021. p. 1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482241/?report=printable>
64. Lamoth F, Calandra T. Let's add invasive aspergillosis to the list of influenza complications. 2018; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/>
65. Gago S, Denning DW, Bowyer P. Pathophysiological aspects of *Aspergillus* colonization in disease. Vol. 57, Medical Mycology. Oxford University Press; 2019. p. S219–27.
66. Jenks JD, Hoenigl M. Treatment of aspergillosis. Vol. 4, Journal of Fungi. MDPI AG; 2018.
67. Arastehfar A, Carvalho A, Houbraken J, Lombardi L, Garcia-Rubio R, Jenks JD, et al. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: From basics to clinics. Vol. 100, Studies in Mycology. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre; 2021.
68. Thompson GR, Young J-AH. *Aspergillus* Infections. New England Journal of Medicine. 2021 Oct 14;385(16):1496–509.
69. de Almeida Alves Simões S, Júnior DPL, Hahn RC. Fungal Microbiota in Air-Conditioning Installed in Both Adult and Neonatal Intensive Treatment Units and Their Impact in Two University Hospitals of the Central Western Region, Mato Grosso, Brazil. Mycopathologia. 2011 Aug;172(2):109–16.



70. Matsuda J da S, Wanke B, Balieiro AA da S, Santos CS da S, Cavalcante RC dos S, Muniz M de M, et al. Prevalence of pulmonary mycoses in smear-negative patients with suspected tuberculosis in the Brazilian Amazon. *Revista Iberoamericana de Micologia*. 2021 Jul 1;38(3):111–8.
71. Schauwvlieghe AFAD, Rijnders BJA, Philips N, Verwijs R, Vanderbeke L, van Tienen C, et al. Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study. *The Lancet Respiratory Medicine* [Internet]. 2018;6(10):782–92. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(18\)30274-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(18)30274-1)
72. Armstrong-James D, Youngs J, Bicanic T, Abdolrasouli A, Denning DW, Johnson E, et al. Confronting and mitigating the risk of COVID-19 associated pulmonary aspergillosis. *European Respiratory Journal*. 2020;56(4).
73. Frederic L, Lewis RE, Walsh TJ, Kontoyiannis DP. Navigating the uncertainties of COVID-19 associated aspergillosis (CAPA): A comparison with influenza associated aspergillosis (IAPA). *The Journal of Infectious Diseases*. 2021;1–40.
74. Queiroz-Fernandes G. Perfil De Resistência De Agentes De Micoses Oportunistas No Brasil. *InterAmerican Journal of Medicine and Health*. 2020;4:1–20.
75. Frías-De-león MG, Pinto-Almazán R, Hernández-Castro R, García-Salazar E, Meza-Meneses P, Rodríguez-Cerdeira C, et al. Epidemiology of systemic mycoses in the covid-19 pandemic. Vol. 7, *Journal of Fungi*. MDPI AG; 2021.
76. Marr KA, Platt A, Tornheim JA, Zhang SX, Datta K, Cardozo C, et al. Aspergillosis complicating severe coronavirus disease. *Emerging Infectious Diseases*. 2021;27(1):18–25.
77. Garbee DD, Pierce SS, Manning J. Opportunistic Fungal Infections in Critical Care Units. *Critical Care Nursing Clinics of North America*. 2017;29(1):67–79.
78. Wahidi MM, Lamb C, Murgu S, Musani A, Shojaee S, Sachdeva A, et al. American Association for Bronchology and Interventional Pulmonology (AABIP) Statement on the Use of Bronchoscopy and Respiratory Specimen Collection in Patients with Suspected or Confirmed COVID-19 Infection. *Journal of Bronchology and Interventional Pulmonology*. 2020;27(4):e52–4.

79. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A, Chen SCA, Colombo AL, Hoenigl M, et al. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *The Lancet Infectious Diseases*. 2021;3099(20).
80. Shadrivova O, Gusev D, Vashukova M, Lobzin D, Gusarov V, Zamyatin M, et al. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in Russia. *Journal of Fungi* [Internet]. 2021 Dec 10;7(12):1059. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/12/1059>
81. van Arkel ALE, Rijpstra TA, Belderbos HNA, van Wijngaarden P, Verweij PE, Bentvelsen RG. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;202(1):132–5.
82. Segrelles-Calvo G, Araújo GRS, Llopis-Pastor E, Carrillo J, Hernández-Hernández M, Rey L, et al. Prevalence of opportunistic invasive aspergillosis in COVID-19 patients with severe pneumonia. *Mycoses*. 2021;64(2):144–51.
83. Alanio A, Dellièrè S, Fodil S, Bretagne S, Mégarbane B. Prevalence of putative invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with COVID-19. *The Lancet Respiratory Medicine*. 2020;8(6):e48–9.
84. Lahmer T, Rasch S, Spinner C, Geisler F, Schmid RM, Huber W. Invasive pulmonary aspergillosis in severe coronavirus disease 2019 pneumonia. Vol. 26, *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier B.V.; 2020. p. 1428–9.
85. Rutsaert L, Steinfort N, van Hunsel T, Bomans P, Naesens R, Mertes H, et al. COVID-19-associated invasive pulmonary aspergillosis. Vol. 10, *Annals of Intensive Care*. Springer; 2020.
86. Helleberg M, Steensen M, Arendrup MC. Invasive aspergillosis in patients with severe COVID-19 pneumonia. Vol. 27, *Clinical Microbiology and Infection*. Elsevier B.V.; 2021. p. 147–8.
87. Nasir N, Farooqi J, Mahmood SF, Jabeen K. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis (CAPA) in patients admitted with severe COVID-19 pneumonia: An observational study from Pakistan. *Mycoses*. 2020;63(8):766–70.

88. Machado M, Valerio M, Álvarez-Uría A, Olmedo M, Veintimilla C, Padilla B, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in the COVID-19 era: An expected new entity. *Mycoses*. 2021;64(2):132–43.
89. van Biesen S, Kwa D, Bosman RJ, Juffermans NP. Detection of invasive pulmonary aspergillosis in COVID-19 with Nondirected BAL. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2020;208(8):1171–3.
90. Chauvet P, Mallat J, Arumadura C, Vangrunderbeek N, Dupre C, Pauquet P, et al. Risk Factors for Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients With Coronavirus Disease 2019-Induced Acute Respiratory Distress Syndrome. *Critical Care Explorations*. 2020 Nov 11;2(11):e0244.
91. Roman-Montes CM, Martinez-Gamboa A, Diaz-Lomelí P, Cervantes-Sanchez A, Rangel-Cordero A, Sifuentes-Osornio J, et al. Accuracy of galactomannan testing on tracheal aspirates in COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. *Mycoses*. 2021;64(4):364–71.
92. Dupont D, Menotti J, Turc J, Miossec C, Wallet F, Richard J-C, et al. Pulmonary aspergillosis in critically ill patients with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Medical Mycology*. 2020;1–5.
93. Dellière S, Dudoignon E, Fodil S, Voicu S, Collet M, Oillic PA, et al. Risk factors associated with COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in ICU patients: a French multicentric retrospective cohort. *Clinical Microbiology and Infection*. 2021 May 1;27(5):790.e1-790.e5.
94. Permpalung N, Chiang TP-Y, Massie AB, Zhang SX, Avery RK, Nematollahi S, et al. COVID-19 Associated Pulmonary Aspergillosis in Mechanically Ventilated Patients Nitipong. *Clinical Infectious Diseases*. 2021;1–40.
95. Lahmer T, Kriescher S, Herner A, Rothe K, Spinner CD, Schneider J, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with severe COVID-19 pneumonia: Results from the prospective AspCOVID-19 study. *Plos One* [Internet]. 2021;16(3):e0238825. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0238825>
96. Fekkar A, Lampros A, Mayaux J, Poignon C, Demeret S, Constantin JM, et al. Occurrence of invasive pulmonary fungal infections in patients with severe COVID-19

- admitted to the ICU. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2021 Feb 1;203(3):307–17.
97. Meijer EFJ, Dofferhoff ASM, Hoiting O, Meis JF. COVID-19–associated pulmonary aspergillosis: a prospective single-center dual case series. *Mycoses*. 2021 Apr 1;64(4):457–64.
  98. Khodavaisy S, Khajavirad N, Hashemi SJ, Izadi A, Dehghan Manshadi SA, Abdollahi A, et al. Proven pulmonary aspergillosis in a COVID-19 patient: A case report. *Current Medical Mycology*. 2021 Mar 1;7(2):39–42.
  99. Vanbellinghen MC, Atasever B, van der Spoel HJI, Bouman CCS, Altenburg J, van Dijk K. Mini-Bronchoalveolar Lavage for Diagnosing Coronavirus Disease 2019–Associated Invasive Pulmonary Aspergillosis. *Critical Care Explorations*. 2021 Dec 17;3(12):e0601.
  100. Alobaid K, Yousuf B, Al-Qattan E, Muqem Z, Al-Subaie N. Pulmonary aspergillosis in two COVID-19 patients from Kuwait. *Access Microbiology*. 2021 Mar 1;3(3).
  101. Baratella E, Roman-Pognuz E, Zerbato V, Minelli P, Cavallaro MFM, Cova MA, et al. Potential links between COVID-19-associated pulmonary aspergillosis and bronchiectasis as detected by high resolution computed tomography. *Frontiers in Bioscience - Landmark*. 2021 Dec 30;26(12):167–1612.
  102. Saltini P, Palomba E, Castelli V, Fava M, Alagna L, Biscarini S, et al. Mucormycosis in capa, a possible fungal super-infection. *Journal of Fungi*. 2021 Sep 1;7(9).
  103. Benhadid-Brahmi Y, Hamane S, Soyer B, Mebazaa A, Alanio A, Chousterman B, et al. COVID-19-associated mixed mold infection: A case report of aspergillosis and mucormycosis and a literature review. Vol. 32, *Journal of Medical Mycology*. Elsevier Masson s.r.l.; 2022.
  104. Bellanger A, Navellou J, Lepiller Q, Brion A, Brunel A, Millon L, et al. Mixed mold infection with *Aspergillus fumigatus* and *Rhizopus microsporus* in a severe acute respiratory syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) patient. Vol. 51, *Infectious Diseases Now*. Lancet Publishing Group; 2021. p. 630–40.

105. Maes M, Higginson E, Pereira-Dias J, Curran MD, Parmar S, Khokhar F, et al. Ventilator-associated pneumonia in critically ill patients with COVID-19. *Critical Care*. 2021 Dec 1;25(1).
106. Vélez Pintado M, Camiro-Zúñiga A, Aguilar Soto M, Cuenca D, Mercado M, Crabtree-Ramirez B. COVID-19-associated invasive pulmonary aspergillosis in a tertiary care center in Mexico City. *Medical Mycology*. 2021 Aug 1;59(8):828–33.
107. Iqbal A, Ramzan M, Akhtar A, Ahtesham A, Aslam S, Khalid J. COVID-Associated Pulmonary Aspergillosis and Its Related Outcomes: A Single-Center Prospective Observational Study. *Cureus*. 2021 Aug 7;
108. Ranhel D, Ribeiro A, Batista J, Pessanha M, Cristovam E, Duarte A, et al. COVID-19-Associated Invasive Pulmonary Aspergillosis in the Intensive Care Unit: A Case Series in a Portuguese Hospital. *Journal of Fungi* [Internet]. 2021 Oct 19;7(10):881. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/10/881>
109. Versyck M, Zarrougui W, Lambiotte F, Elbeki N, Saint-Leger P. Invasive pulmonary aspergillosis in COVID-19 critically ill patients: Results of a French monocentric cohort. *Journal of Medical Mycology*. 2021 Jun 1;31(2).
110. Sivasubramanian G, Ghanem H, Maison-Fomotar M, Jain R, Libke R. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: A single-center experience in Central Valley, California, january 2020–march 2021. *Journal of Fungi*. 2021 Nov 1;7(11).
111. Leistner R, Schroeter L, Adam T, Poddubnyy D, Stegemann M, Siegmund B, et al. Corticosteroids as risk factor for COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in intensive care patients. *Critical Care* [Internet]. 2022 Dec 28;26(1):30. Available from: <https://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-022-03902-8>
112. DAS S, GUPTA S, JAIN C, RAI G, ALQUMBER M. Utility of serum Galactomannan in diagnosing COVID-19 patients with suspected IPA: an observational study in resource limited settings. 2022.
113. Kirchhoff L, Braun L, Schmidt D, Dittmer S, Dedy J, Herbstreit F, et al. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in ICU patients in a German reference centre: phenotypic and molecular characterization of *Aspergillus fumigatus* isolates.

- Mycoses [Internet]. 2022 Feb 9; Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/myc.13430>
114. Sánchez Martín C, Madrid Martínez E, González Pellicer R, Armero Ibáñez R, Martínez González E, Llau Pitarch J v. Invasive pulmonary aspergillosis in patients with acute respiratory syndrome by COVID-19. *Revista Espanola de Anestesiologia y Reanimacion*. 2022 Jan 1;69(1):48–53.
  115. Farias ME, Santana MF, Ferreira L, Borba M, Silva-Neto J, Brito-Sousa JD, et al. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in a Series of Complete Autopsies from the Brazilian Amazon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2022 Jan 7;106(2):571–3.
  116. Jiang Z, Chen S, Zhu Q, Xiao Y, Qu J. COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in a tertiary care center in Shenzhen City. *Journal of Infection and Public Health*. 2022 Feb 1;15(2):222–7.
  117. Traver EC, Malavé Sánchez M. Pulmonary aspergillosis and cryptococcosis as a complication of COVID-19. *Medical Mycology Case Reports*. 2022 Mar 1;35:22–5.
  118. Huzefa Bhopalwala, Vinayak Mishra, Tuong Vi Do, Mythili Gudipati, Subramanya Shyam Ganti. COVID-19 Infection and Late Manifestation of Pulmonary Aspergillosis. *Journal of Investigative Medicine HighImpact Case Report*. 2021 Dec 6;10:1–4.
  119. Tio SY, Williams E, Worth LJ, Deane AM, Bond K, Slavin MA, et al. Invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with COVID-19 in Australia: implications for screening and treatment. *Internal Medicine Journal*. 2021 Dec 1;51(12):2129–32.
  120. Benedetti MF, de Abreu MS, Cadena RC, Arias MC, Posse G, Capece P, et al. Invasive pulmonary aspergillosis and candidiasis in a critically ill patient with COVID-19. *Journal of Medical Mycology [Internet]*. 2022 May;32(2):101251. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1156523322000087>
  121. Donnelly JP, Chen SC, Kauffman CA, Steinbach WJ, Baddley JW, Verweij PE, et al. Revision and Update of the Consensus Definitions of Invasive Fungal Disease From the European Organization for Research and Treatment of Cancer and the Mycoses

- Study Group Education and Research Consortium. *Clin Infect Dis*. 2020;71(6):1367–76.
122. Blot SI, Taccone FS, van den Abeele AM, Bulpa P, Meersseman W, Brusselaers N, et al. A Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 2012 Jul 1;186(1):56–64.
  123. Verweij PE, Rijnders BJA, Brüggemann RJM, Azoulay E, Bassetti M, Blot S, et al. Review of influenza-associated pulmonary aspergillosis in ICU patients and proposal for a case definition: an expert opinion. *Intensive Care Medicine* [Internet]. 2020;46(8):1524–35. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00134-020-06091-6>
  124. Ghosh A, Sarkar A, Paul P, Patel P. The rise in cases of mucormycosis, candidiasis and aspergillosis amidst COVID19. Vol. 38, *Fungal Biology Reviews*. Elsevier Ltd; 2021. p. 67–91.
  125. Ceesa M, Mehra V, Pagliuca A. *Aspergillus Infections*. *New England Journal of Medicine* [Internet]. 2022 Jan 13;386(2):196–8. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMc2118252>
  126. Gangneux JP, Reizine F, Guegan H, Pinceaux K, le Balch P, Prat E, et al. Is the covid-19 pandemic a good time to include aspergillus molecular detection to categorize aspergillosis in icu patients? A monocentric experience. *Journal of Fungi*. 2020;6(3):1–12.
  127. Bartoletti M, Pascale R, Cricca M, Rinaldi M, Maccaro A, Linda Bussini, Giacomo Fornaro, Tommaso Tonetti, Giacinto Pizzilli, Eugenia Francalanci, Lorenzo Giuntoli, Arianna Rubin, Alessandra Moroni, Simone Ambretti, Filippo Trapani, Oana Vatamanu, Vito Marco Ranieri AC, et al. Epidemiology of invasive pulmonary aspergillosis among COVID-19 intubated patients: a prospective study. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2020;26(6):1–15.
  128. Mitaka H, Kuno T, Takagi H, Patrawalla P. Incidence and Mortality of COVID-19-associated Pulmonary Aspergillosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Mycoses, diagnosis, therapy and prophylaxis of Fungal Diseases*. 2021;0–23.

129. Kula BE, Clancy CJ, Hong Nguyen M, Schwartz IS. Invasive mould disease in fatal COVID-19: a systematic review of autopsies. Vol. 2, *The Lancet Microbe*. Elsevier Ltd; 2021. p. e405–14.
130. Santana MF, Pivoto G, Alexandre MAA, Baía-Da-silva DC, Borba MG da S, Val FA, et al. Confirmed invasive pulmonary aspergillosis and COVID-19: The value of postmortem findings to support antemortem management. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2020;53(June):1–4.
131. Walter E. Finkbeiner, Andrew J Connolly, Philip C. Ursell, Richard L. Davis. *Autopsy Pathology: A Manual and Atlas*. 2nd ed. Elsevier Health Sciences; 2009.
132. Santana MF, Frank CHM, Almeida TVR, Jeronimo CMP, de Araújo Pinto RA, Martins YF, et al. Hemorrhagic and thrombotic manifestations in the central nervous system in COVID-19: A large observational study in the Brazilian Amazon with a complete autopsy series. *PLoS ONE*. 2021 Sep 1;16(9 September).
133. QIAGEN. *DNeasy® Blood & Tissue Handbook*. 2020.
134. Muñoz-Cadavid C, Rudd S, Zaki SR, Patel M, Moser SA, Brandt ME, et al. Improving molecular detection of fungal DNA in formalin-fixed paraffin-embedded tissues: Comparison of five tissue DNA extraction methods using panfungal PCR. *Journal of Clinical Microbiology*. 2010 Jun;48(6):2147–53.
135. Bio-Rad Laboratories. *Platelia Aspergillus Ag*. 2013;



## 8. ANEXOS

### ANEXO 1 - Parecer de aprovação da CONEP

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Estudo de fase IIb para avaliar eficácia e segurança do difosfato de cloroquina no tratamento de pacientes hospitalizados com síndrome respiratória grave no âmbito do novo Coronavírus (SARS-CoV2): um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, controlado com placebo

**Pesquisador:** Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 30152620.1.0000.0005

**Instituição Proponente:** Diretoria de Ensino e Pesquisa - DENPE

**Patrocinador Principal:** SECRETARIA DE ESTADO DA SAUDE - SUSAM

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.927.624

**Apresentação do Projeto:**

vide Conclusão de Pendência

**Objetivo da Pesquisa:**

vide Conclusão de Pendência

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

vide Conclusão de Pendência

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

vide Conclusão de Pendência

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

vide Conclusão de Pendência

**Recomendações:**

vide Conclusão de Pendência

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

vide Conclusão de Pendência

**Considerações Finais a critério do CEP:**

De acordo com as prerrogativas estabelecidas no item IX.10 da Resolução do Conselho Nacional de

**Endereço:** Av. Pedro Teixeira, 25

**Bairro:** D. Pedro I

**CEP:** 69.040-000

**UF:** AM

**Município:** MANAUS

**Telefone:** (92)2127-3572

**Fax:** (92)2127-3572

**E-mail:** cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 3.927.624

Saúde n 466, de 12 de dezembro de dezembro de 2012, a CONEP estabelece que seja encaminhado os protocolos de pesquisa sobre a referida virose deverão ser encaminhados para serem apreciados pela CONEP.

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

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1529481.pdf	20/03/2020 19:25:19		Aceito
Orçamento	Orcamento_CloroCOVID19.xlsx	20/03/2020 19:23:15	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Orçamento	Orcamento_CloroCOVID19.pdf	20/03/2020 19:23:00	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_detalhado_CloroCOVID_19.docx	20/03/2020 19:22:14	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Protocolo_detalhado_CloroCOVID_19.pdf	20/03/2020 19:22:03	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	justificativa_necessidade_200320.docx	20/03/2020 19:13:39	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	justificativa_necessidade_200320.pdf	20/03/2020 19:13:16	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	instraestrutura_HPSDRAA.doc	20/03/2020 19:12:30	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	instraestrutura_HPSDRAA.pdf	20/03/2020 19:11:57	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	esclarecimento_tcle_200320.pdf	20/03/2020 19:11:15	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	esclarecimento_tcle_200320.docx	20/03/2020 19:10:41	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	esclarecimento_eventual_encerramento_200320.pdf	20/03/2020 19:09:52	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito

**Endereço:** Av. Pedro Teixeira, 25

**Bairro:** D. Pedro I

**CEP:** 69.040-000

**UF:** AM

**Município:** MANAUS

**Telefone:** (92)2127-3572

**Fax:** (92)2127-3572

**E-mail:** cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 3.927.624

Outros	esclarecimento_eventual_encerramento_200320.docx	20/03/2020 19:09:16	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	declaracao_recursos_financeiros_200320.pdf	20/03/2020 19:08:45	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	declaracao_recursos_financeiros_200320.docx	20/03/2020 19:07:25	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	armazenamento_analise_amostra_biologica_200320.pdf	20/03/2020 19:06:19	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	armazenamento_analise_amostra_biologica_200320.docx	20/03/2020 19:03:37	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	resolucoes_eticas_placebo_200320.pdf	20/03/2020 19:00:18	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	resolucoes_eticas_placebo_200320.docx	20/03/2020 18:59:11	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	colaboradores_200320.docx	20/03/2020 18:54:49	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Outros	colaboradores_200320.pdf	20/03/2020 18:53:14	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
Brochura Pesquisa	bula_cloroquina_200320.pdf	20/03/2020 18:52:30	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_necropsia.doc	20/03/2020 18:49:47	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.doc	20/03/2020 18:49:17	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_RESPONSAVEL_LEGAL.doc	20/03/2020 18:49:08	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_necropsia.pdf	20/03/2020 18:48:57	Marcus Vinicius Guimarães de Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento /	TCLE.pdf	20/03/2020 18:48:25	Marcus Vinicius Guimarães de	Aceito

**Endereço:** Av. Pedro Teixeira, 25

**Bairro:** D. Pedro I

**CEP:** 69.040-000

**UF:** AM

**Município:** MANAUS

**Telefone:** (92)2127-3572

**Fax:** (92)2127-3572

**E-mail:** cep@fmt.am.gov.br

FUNDAÇÃO DE MEDICINA  
TROPICAL "DOUTOR HEITOR  
VIEIRA DOURADO"



Continuação do Parecer: 3.927.624

Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	20/03/2020 18:48:25	Lacerda	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_RESPONSAVEL_LEGAL.pdf	20/03/2020 18:48:15	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Folha de Rosto	folhaderosto_clocovid19_200320.pdf	20/03/2020 18:41:08	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_Farmanguinhos.pdf	20/03/2020 13:47:29	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_UEA.pdf	20/03/2020 13:46:15	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_FVS.pdf	20/03/2020 13:44:36	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_ILMD_Fiocruz.pdf	20/03/2020 13:43:39	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termos_Delphina.pdf	20/03/2020 13:42:54	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_DENPE_FMT.pdf	20/03/2020 13:42:26	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito
Outros	Termo_SUSAM.pdf	20/03/2020 13:41:50	Marcus Vinicius Guimaraes de Lacerda	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Sim

MANAUS, 21 de Março de 2020

**Assinado por:**  
**Marilaine Martins**  
**(Coordenador(a))**

**Endereço:** Av. Pedro Teixeira, 25  
**Bairro:** D. Pedro I **CEP:** 69.040-000  
**UF:** AM **Município:** MANAUS  
**Telefone:** (92)2127-3572 **Fax:** (92)2127-3572 **E-mail:** cep@fmt.am.gov.br

## ANEXO 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

**Estudo:** “Estudo de fase IIb para avaliar eficácia e segurança do difosfato de cloroquina no tratamento de pacientes hospitalizados com síndrome respiratória grave no âmbito do novo coronavírus (SARS-CoV2): um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado.”

**Patrocinador:** Secretaria de Estado de Saúde do Amazonas - SUSAM

**Centro de Pesquisa:** Fundação de Medicina Tropical Doutor Vieira Dourado – FMT-HVD

**Pesquisador Principal:** Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda

**Co-Investigador Principal:** Dra. Mayla Gabriela Silva Borba

**Telefone de contato:** (92) 99114-7633

#### **I. Dados sobre a Pesquisa:**

##### **1) Introdução**

Vimos por meio deste informá-lo sobre um estudo de pesquisa que você está sendo convidado a participar.

O estudo e este termo foram aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa-CONEP.

Neste termo são fornecidas as informações corretas e suficientes para que você possa avaliar e julgar se tem interesse ou não em participar deste estudo. Para tanto, leia este documento cuidadosamente e esclareceremos quaisquer dúvidas que possam surgir após a explicação. Além disso, você pode consultar as pessoas que julgar convenientes.

Você deverá assinar esse termo em duas vias, uma ficará com você e outra conosco. Todas as páginas devem ser rubricadas.

##### **2) Participação Voluntária**

A sua participação é voluntária e se não concordarem participar ou alterar a sua decisão e retirar o consentimento a qualquer momento do estudo, o seu tratamento não será prejudicado. Será possível fazer todas as perguntas que quiser em qualquer momento do estudo. Você tem todo o tempo que quiser para decidir e discutir a situação com pessoas de sua confiança.

##### **3) Descrição Geral do Estudo**

Você está sendo convidado para participar desta pesquisa porque está com síndrome respiratória grave que pode ser causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV2).

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



A infecção pelo coronavírus ainda não tem vacina e não tem tratamento específico para matar esse vírus. Alguns medicamentos estão sendo usados, porém sem confirmação da sua utilidade para o tratamento. Alguns estudos demonstraram que a cloroquina conseguiu parar a multiplicação do vírus nos pacientes que tomaram essa medicação. Apesar dos bons resultados, não existem estudos conclusivos que comprovem o uso desse medicamento para o tratamento do COVID-19. A cloroquina é um remédio usado para o tratamento da malária desde a década de 1930. É um medicamento seguro para uso em grávidas, inclusive é o medicamento de escolha para o tratamento da malária nas gestantes. As complicações da cloroquina estão relacionadas ao uso prolongado da medicação, o que não ocorrerá neste estudo, pois o tratamento será realizado no período de 5 dias.

Este estudo vai acontecer no Hospital Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz, Manaus, Amazonas e em outros centros de pesquisa no Brasil. Vamos ter um total de 440 participantes incluídos.

O estudo possui dois grupos: um grupo utiliza a cloroquina com dose baixa e conforme recomendação do Ministério da Saúde e outro grupo utiliza placebo.

Se aceitar entrar no estudo, você será sorteado para receber a cloroquina ou placebo. O placebo é um comprimido que se parece com cloroquina, mas não tem o efeito da cloroquina. Placebos são usados em estudos clínicos para saber se os efeitos observados são realmente causados pelo medicamento do estudo ou por outras razões. Nem você nem a equipe do estudo saberão o que você está recebendo. Você não vai descobrir o que está tomando até que todo o estudo tenha terminado e os resultados sejam conhecidos. Você e seu médico podem receber a informação sobre o que você está tomando a qualquer momento, se necessário para a sua saúde. Você vai tomar o medicamento do estudo (cloroquina ou placebo) na dose de 3 comprimidos duas vezes ao dia, no primeiro dia, e depois 3 comprimidos por dia, nos próximos 4 dias, totalizando 5 dias de tratamento por via oral ou por sonda nasoesférica (um tubo colocado pelo nariz até chegar no intestino, servirá também para te alimentar).

O objetivo principal deste estudo é avaliar se o uso da cloroquina ajuda na diminuição da quantidade de mortes causados pelo novo coronavírus (COVID-19).

Além disso, esse estudo também vai avaliar:

- Se a cloroquina melhora o quadro do paciente com coronavírus (COVID-19) (tempo no hospital, tempo na Unidade de Tratamento Intensivo (UTI), necessidade de uso de aparelhos que te ajudem a respirar, incluindo o aparelho que tem um tubo junto);
- Se o novo coronavírus (COVID-19) ainda pode ser encontrado no seu organismo (sangue e secreção da boca/nariz) ao longo do acompanhamento do estudo;
- Saber a quantidade do novo coronavírus (COVID-19) no seu organismo (sangue e secreção da boca/nariz) ao longo do acompanhamento do estudo;

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



- Avaliar os desconfortos causados pelo novo coronavírus (COVID-19) ou pelo tratamento, incluindo sintomas e alterações no seu exame de sangue.

Durante a fase de triagem, depois de tirar todas suas dúvidas e assinar esse termo, você vai fazer uma entrevista onde vamos perguntar informações sobre a sua vida, o lugar onde você mora e o histórico de saúde, bem como os medicamentos que você toma no dia-a-dia. Depois vai passar por uma avaliação médica e fazer alguns exames para a gente saber sobre a sua saúde.

Exame físico e avaliação clínica: Você passará por um exame físico no acolhimento no hospital. Examinaremos seus sinais vitais, incluindo, a frequência da sua respiração e coração, pressão arterial e pulso. Faremos medições da altura e peso, perguntas sobre sua saúde e uso de medicamentos. Você será examinado pela equipe todos os dias enquanto ficar internado. Também vai ser anotado qualquer evento (alteração nova na sua saúde) que você apresentar nesse período.

No 28º dia após o dia da assinatura deste termo de consentimento, caso você não esteja internado, vamos entrar em contato por telefone para saber da sua saúde e se você está sentindo algum desconforto.

Após a alta hospitalar, você, caso ache necessário por dúvida, desconforto ou outro motivo poderá entrar em contato telefônico com a equipe.

ECG: Um eletrocardiograma (ECG) será feito na admissão de entrada no hospital. Um ECG é um traçado elétrico do coração, que pode mostrar o quanto o coração está se esforçando para bater. Você ficará deitado com as pernas dobradas durante 05 minutos e em seguida fará o eletrocardiograma. O ECG será feito todos os dias enquanto você ficar hospitalizado.

Coleta de sangue: O sangue será coletado para realização de diferentes exames. Vamos coletar 20 ml de sangue do seu braço (um pouco mais que uma colher de sopa). Esses exames incluem testes para saber se tem o novo coronavírus (COVID-19) e para saber sobre a sua saúde. Também vamos guardar um pouco do seu sangue para fazer exames depois e saber mais desta doença. Os seus exames de sangue serão feitos todos os dias até você receber alta para casa.

Swab orofaríngeo/nasal (espécie de cotonete): esse exame serve para saber se você tem o vírus; é um exame simples em que passa essa espécie de cotonete na sua boca e nariz e colhe um pouco da secreção. Vai ser feito até a sua alta para saber se o vírus já foi eliminado.

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



Teste de gravidez: se você for mulher, vai coletar um pote de urina (aproximadamente duas colheres de sopa) para um teste de gravidez. Esse exame será feito no primeiro dia do seu atendimento médico.

Exames de imagem: o médico vai avaliar você e se for preciso você vai fazer exames de imagem, como radiografia (raio-x), tomografia ou ressonância magnética.

Internação: Você vai ficar internado por causa do quadro da sua doença respiratória, para ter todo suporte médico necessário até sua melhora. Caso você necessite, de acordo com a avaliação médica, de alguma ajuda para respirar, você vai ser internado na unidade de terapia intensiva (UTI), uma parte do hospital em que são internados os pacientes mais graves e que precisam de aparelho para acompanhar a sua saúde ou para ajudar você respirar, nesse momento você poderá ser sedado (medicamento para dormir). Esses procedimentos são necessários em alguns casos e serão realizados pela equipe de saúde treinada e que já trabalham na UTI e cuidam dos pacientes graves.

Durante esse período, você vai ser perguntando sobre o que você está sentindo e terá uma equipe clínica à sua disposição para o caso de você sentir algum desconforto ou outro motivo que você quiser.

Caso tenha que ficar dormindo durante uma parte do estudo, todos os procedimentos que estão explicados aqui vão continuar sendo feito e, apesar de não conseguirmos te perguntar sobre seu estado de saúde, continuaremos te acompanhando pelos exames e tomando as medidas necessárias para que você fique bem.

#### **4) Benefícios e Riscos Derivados de sua Participação no Estudo**

Benefícios: Estudos recentes demonstraram que a cloroquina tem um benefício no tratamento de pessoas com infecção pelo novo coronavírus (COVID-19), porém ainda é cedo para afirmar se essa medicação ajuda a melhorar os pacientes graves. Se participar deste estudo, talvez haja um benefício direto para você, mas não se pode dar qualquer garantia. Você pode se beneficiar com o uso do medicamento, mas também é possível que não receba nenhum benefício por estar neste estudo, porque o medicamento pode não funcionar ou porque você pode estar no grupo placebo. Caso o benefício da cloroquina tenha sido comprovado e venha precisar de tratamento, vamos oferecê-lo a você. As informações obtidas com este estudo podem ajudar outras pessoas com síndrome respiratória e que apresentem um caso grave da doença.

Riscos: Alguns incômodos e desconfortos podem ocorrer enquanto você estiver participando do estudo. Estes desconfortos podem ser:

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada





Risco de origem psicológica, intelectual e emocional: existe a possibilidade de vergonha, desconforto, medo, estresse, quebra de sigilo e anonimato (divulgar os seus dados pessoais). Para minimizar esses riscos, os participantes serão anonimizados (não constará o seu nome e sim um código para cada paciente) e a equipe é treinada para o acolhimento e a realização de entrevistas de forma segura.

Ventilação Mecânica: A ventilação mecânica (VM) ou suporte ventilatório pode ser usado com uma máscara de oxigênio ligada a uma máquina que vai ajudar na respiração (chamada de ventilação mecânica não invasiva) ou pode ser colocado um tubo na traqueia (parte do corpo de passa o ar para os pulmões) e ligar o tubo na máquina para melhorar a respiração (chamada de ventilação mecânica invasiva). A VM serve para o tratamento de pacientes com insuficiência respiratória aguda ou crônica agudizada (dificuldade para respirar). A escolha de fazer não invasiva ou invasiva depende da avaliação do médico que atenderá o paciente. Os riscos da VM é uma possível infecção por bactérias; para diminuir esse risco, você será examinado diariamente, caso apresente algum sinal de infecção será tratado imediatamente.

Internação: você pode se sentir inquieto por causa da internação, mas faremos o possível para minimizar algum desconforto ao longo desse período. Nossa equipe ficará a sua disposição. É importante que você pense que é para sua segurança e melhor tratamento.

Intubação Orotraqueal (aparelho com tubo acoplado): é um procedimento pelo qual o médico introduz um tubo na traqueia (parte do corpo que passa o ar para chegar no pulmão) do paciente, através da boca, para mantê-lo respirando quando alguma condição impede sua respiração espontânea. Para fazer esse procedimento você será sedado (aplicado um remédio para você dormir e não sentir dor) e assim diminuir o desconforto. Existem riscos nesse procedimento e ao longo do tempo que você estiver usando esse aparelho, como: o processo de sedação (incômodo da picada e alterações do batimento do seu coração), falta de oxigênio e aumento de gases tóxicos no seu sangue, vômito, aspiração do suco gástrico (quando você tem uma espécie de ânsia de vômito e, ao retornar, o suco gástrico vai para os pulmões) e feridas na boca e corda vocal. Toda a equipe é treinada e capacitada para realização desse procedimento e minimizaremos ao máximo os riscos.

Coleta de sangue: A picada para a coleta de sangue pode causar dor no local da punção, vermelhidão na pele no local da picada, sangramento ou, raramente, infecção na área. Algumas pessoas podem sentir tonturas durante a punção. Se qualquer uma dessas situações ocorrer, a equipe está capacitada para lhe atender. É importante te dizer que a

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



equipe é treinada e orientada da melhor forma possível para evitar que esses inconvenientes ocorram. Nossos materiais também são esterilizados e de uso individual.

Coleta de secreção da boca e nariz: você pode sentir um leve desconforto ao colocarmos o swab (uma espécie de cotonete) na sua boca e nariz para coletar secreção, mas será breve e a equipe é treinada para evitar ao máximo que isso aconteça. Os materiais são esterilizados e descartáveis.

Radiografia: os principais riscos associados com radiografia são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzido por radiação. Esses riscos são minimizados utilizando-se a proteção de chumbo adequada na hora da realização do exame e essa possibilidade é quase nula no caso do estudo, pois você será exposto poucas vezes a esse exame.

Tomografia Computadorizada: você pode sentir uma leve claustrofobia (medo de ficar em ambiente apertado), mas sua cabeça e seu rosto ficam para o lado de fora. Ficando exposto à radiação por um breve período de tempo. Seus principais riscos são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzido por radiação. Esta radiação deve ser mantida no nível mais baixo possível e dentro desses limites não há risco.

Ressonância Magnética: você pode sentir uma leve claustrofobia (medo de ficar em ambiente apertado), mas sua cabeça e seu rosto ficam para o lado de fora. O barulho pode incomodar um pouco, mas para minimizar este desconforto ofereceremos tampões de ouvido. Esse procedimento não usa radiação. Se você tiver marcapasso ou fixadores ortopédicos deve avisar, pois não poderá realizar este procedimento.

Eletrocardiograma: é um procedimento totalmente seguro. Não há riscos de choque. Pode haver um pequeno desconforto quando são removidas as bandagens e há um pequeno risco de irritação na pele pelo contato com os eletrodos. Para evitar que isso ocorra sempre limpamos bem a área local e, se necessário, raspamos os pelos da região. Na hora de retirar os eletrodos, faremos com muita cautela e com álcool, que facilita a retirada.

Tratamento com cloroquina: se você estiver no grupo da cloroquina, o medicamento quando tomado pela boca, pode fazer você sentir um gosto amargo. Além disso, você pode ter desconfortos como: dor de cabeça, dor no estômago, enjoo, coceira, alterações no seu coração, na sua visão, no seu humor e no seu exame de sangue (nas enzimas do fígado). Esses desconfortos não são comuns, mas para minimizá-los você fará

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



eletrocardiograma periodicamente, exames físicos e de sangue para acompanhamento. Caso tenha necessidade, também podemos te medicar para os sintomas. Você também pode procurar a equipe do estudo a qualquer momento.

Riscos do jejum: Algumas pessoas ficam incomodadas por ficar sem comer muito tempo (jejum). Isso pode fazer você se sentir ansioso, irritável ou com fome. Vamos evitar que você fique sem comer por muito tempo, só quando for necessário.

Riscos desconhecidos: Outros efeitos colaterais ainda não conhecidos neste momento podem acontecer durante o estudo. Durante o estudo, você será informado sobre quaisquer novas informações que possam afetar sua decisão de permanecer no estudo.

### **5) Acompanhamento e assistência**

Se você sofrer algum dano ou intercorrência, deverá falar para alguém da equipe da pesquisa imediatamente ou em caso de emergência, poderá contatar diretamente Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda, médico e pesquisador do estudo, através do telefone (92) 99114-7622.

Nós lhe daremos toda assistência integral e gratuita e que for necessária para garantir seu bem-estar. Os médicos e enfermeiros da pesquisa irão garantir que você receba assistência imediata caso tenha quaisquer tipos de danos, diretos ou indiretos, imediatos ou tardios, sofridos no decorrer de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste documento.

### **6) Confidencialidade**

Ao dar o seu consentimento para participar deste estudo, os dados de seu prontuário médico, bem como os provenientes de sua participação no estudo, serão coletados, transferidos, utilizados e processados pelo médico do estudo e por sua equipe, assim como pelo patrocinador e pelas empresas que colaboram com ele. Este termo de consentimento ficará armazenado junto ao seu prontuário médico no centro de pesquisa. O acesso ao seu prontuário médico será restrito ao médico do estudo e à sua equipe, às autoridades sanitárias e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Todas as informações coletadas no estudo que possam ferir a sua privacidade serão anonimizadas (isto é, ocultadas) e, caso seja necessário encaminhamento de suas informações para o patrocinador ou empresas que colaborem com ele, eles jamais saberão nada sobre sua identidade. Sob nenhuma circunstância serão feitas cópias de seu prontuário médico. Todas as pessoas que terão acesso ao seu prontuário têm a obrigação de garantir a confidencialidade inerente a sua profissão.

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



As informações sobre a sua participação neste estudo serão associadas a você através de um número de identificação individual. Apenas o médico e a equipe da pesquisa poderão relacionar tal número com você em qualquer momento.

No contexto desta pesquisa clínica, o processamento de seus dados médicos será feito para analisar os resultados da pesquisa. Para tanto, suas informações médicas não incluirão dados pessoais que permitam a sua identificação e serão transferidas para o patrocinador da pesquisa e/ou para pessoas ou empresas que atuam em seu nome e/ou parceiros acadêmicos e industriais do estudo (aqui ou no exterior) com a finalidade específica de colaboração científica para pesquisa e/ou desenvolvimento. Estes dados também podem, em condições que garantam a sua confidencialidade, ser comunicados às autoridades de saúde locais e estrangeiras.

Ao assinar este termo de consentimento, você permitirá ao médico do estudo e à equipe de pesquisa usar informações sobre seu prontuário médico para os objetivos do presente estudo. Toda a equipe médica e de enfermagem envolvida no seu cuidado saberá se você participa ou não do estudo. Qualquer informação obtida em relação a este projeto que possa identificá-lo será mantida em sigilo e não será compartilhada sem a sua permissão, exceto quando exigido por lei. Na divulgação dos resultados desse estudo, seu nome não será citado.

Em caso de dúvidas sobre a coleta e o uso de suas informações, entre em contato com o médico do estudo.

#### **7) O que ocorre com as informações obtidas no estudo**

Se decidir por participar no estudo, é possível que informações relevantes sejam obtidas na análise das amostras biológicas. De acordo com as leis atuais, você tem o direito de ser informado dos dados obtidos no decorrer do estudo. Caso seja solicitado, poderemos lhe fornecer informações sobre o estudo no que diz respeito ao uso dos dados.

#### **8) O que acontecerá com as amostras de sangue e de secreção da orofaringe/nasal**

As amostras de sangue e secreção da boca e nariz obtidos serão utilizadas para a realização dos seus exames conforme explicado.

O material coletado será concedido para o correto gerenciamento e utilização por parte do pesquisador para fins deste estudo e, por isso, ele não terá valor comercial. Além disso, você não receberá qualquer compensação financeira ou de outro tipo de benefício.

Solicitamos seu consentimento para guardar essas amostras durante o período do estudo e para futuros exames que, porventura possam ser oportunas se aprovadas pelo

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



Comitê de Ética e/ou Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Esse armazenamento será feito em um biorrepositório (local onde são armazenadas as amostras) localizado no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, localizando na Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM.

Suas amostras sanguíneas e de secreção da boca e nariz serão armazenadas por 5 anos depois da data da assinatura deste termo e depois serão descartadas.

O seu consentimento poderá ser retirado a qualquer momento do estudo e sua amostra descartada. Neste caso, a retirada do consentimento de guarda das amostras biológicas humanas armazenadas em banco deverá ser realizada por escrito e assinada, conforme o item 10.I da Resolução 441 de 2011.

### 9) Ressarcimento

Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo para você. Os acompanhamentos médicos após a sua alta hospitalar serão realizados por telefone; se necessário, você receberá um ressarcimento pelos gastos relacionados à sua participação no estudo, como crédito telefônico.

*Apesar de não haver compensação financeira, ao assinar este termo de consentimento você não abrirá mão de nenhum dos seus direitos legais, garantidos na regulamentação brasileira de pesquisa envolvendo seres humanos, sendo um de seus direitos a solicitação de indenização.*

### 10) Outras Informações Relevantes

Você não terá que pagar pelo medicamento do estudo. Qualquer nova informação referente ao medicamento utilizado no estudo que seja descoberta durante a sua participação, e que possa afetar a sua disposição em participar no estudo, lhe será comunicada por seu médico o quanto antes. Com a sua desistência do estudo, o médico responsável pelo lhe recomendará outros tratamentos. Seu médico conversará com você as alternativas que estão disponíveis. Você não precisa participar deste estudo para receber tratamento. Se você desistir do estudo, nenhum dado novo será adicionado ao banco de dados e você poderá solicitar a destruição de todas as amostras identificáveis e anteriormente retidas para evitar a realização de novas análises.

Você pode ser excluído do estudo se os pesquisadores considerarem oportuno, tanto por razões de segurança, por qualquer desconforto que ocorra pela medicação do estudo ou por considerar que você não está cumprindo os procedimentos solicitados pela equipe do estudo. Em todos os casos, você receberá uma explicação adequada do motivo que

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



ocasionou a sua retirada do estudo. Além disso, o estudo também pode ser cancelado por razões administrativas.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você se compromete a cumprir com os procedimentos do estudo que foram explicados.

#### 11) Contato:

Para obter mais informações sobre este estudo ou para qualquer informação adicional sobre os seus direitos como participante, ou se você quiser fazer uma reclamação, por favor, entre em contato com o pesquisador responsável do estudo: **Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda**, no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM; telefone (92) 99114 7633; e-mail [marcuslacerda.br@gmail.com](mailto:marcuslacerda.br@gmail.com).

Em caso de dúvidas, denúncias ou reclamações sobre a sua participação e sobre questões éticas do estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado; e-mail: [cep@fmt.am.gov.br](mailto:cep@fmt.am.gov.br); endereço: na Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM; telefone: (92) 2127-3572. O horário de funcionamento do CEP é de 8 às 14 horas, de segunda à sexta-feira.

Além disso, você pode entrar em contato com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

#### **Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)**

SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte  
 CEP: 70719-040, Brasília-DF  
 Telefone: (61) 3315-5877  
 e-mail: [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br)

A CONEP e o CEP têm composição multidisciplinar com participação de pesquisadores, estudiosos de bioética, juristas, profissionais de saúde, das ciências sociais, humanas e exatas e representantes de usuários. O CEP tem como principal função defender os seus interesses como participante de pesquisa em sua integridade, segurança, bem-estar e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos. A CONEP tem função consultiva, deliberativa, normativa e educativa, atuando junto com os CEPs.

---

Rubrica do Participante de Pesquisa

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



## **II. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido**

Eu (nome completo), \_\_\_\_\_

- Tive a oportunidade de tirar dúvidas sobre o estudo.
- Recebi informações suficientes sobre o estudo.
- Serei informado regularmente sobre qualquer informação que possa afetar a minha disponibilidade em continuar a minha participação no estudo.
- Autorizo o acesso às minhas informações confidenciais.
- Autorizo o processamento de minhas informações e amostras.
- Entendo que receberei uma via deste termo.
- Entendo que a minha participação é voluntária.
- Entendo que posso retirar o meu consentimento e concluir a minha participação:
  1. Em qualquer momento
  2. Sem dar qualquer explicação
  3. Sem que prejudique meu tratamento posterior

Ofereço livremente o meu acordo para participar deste estudo e dou o meu consentimento para acessar e usar os meus dados nas condições descritas neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

( ) SIM ( ) NÃO

Concordo que as amostras serão armazenadas para um biorrepositório e autorizo contato, caso necessário, para futuros estudos que possam ocorrer, aprovados pelo CEP e, quando necessário, pela CONEP.

( ) SIM ( ) NÃO

### **Participante da Pesquisa**

### **Pesquisador ou pessoa por ele delegada**

Nome: \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

*(Este documento será assinado em duas vias originais, ficando uma original com o pesquisador e a outra original com o participante da pesquisa)*

<b>Testemunha imparcial (se aplicável)</b>	<b>Impressão datiloscópica do participante</b>
Nome: _____	
Assinatura: _____	
Data: _____	

Rubrica do Participante de Pesquisa

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada

## ANEXO 3 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Responsáveis Legais



### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA REPRESENTANTES LEGAIS**

**Estudo:** “Estudo de fase IIb para avaliar eficácia e segurança do difosfato de cloroquina no tratamento de pacientes hospitalizados com síndrome respiratória grave no âmbito do novo coronavírus (SARS-CoV2): um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado.”

**Patrocinador:** Secretaria Estadual de Saúde

**Centro de Pesquisa:** Fundação de Medicina Tropical Doutor Vieira Dourado – FMT-HVD

**Pesquisador Principal:** Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda

**Co-Investigador Principal:** Dra. Mayla Gabriela Silva Borba

**Telefone de contato:** (92) 99114-7633

#### **I. Dados sobre a Pesquisa:**

##### **1) Introdução**

Vimos por meio deste informá-lo sobre um estudo de pesquisa que seu familiar está sendo convidado a participar. Ele infelizmente não está consciente para realizar esse processo agora, então você poderá representá-lo.

O estudo e este termo foram aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa-CONEP.

Neste termo são fornecidas as informações corretas e suficientes para que você possa avaliar e julgar se tem interesse ou não que o seu familiar em participar deste estudo. Para tanto, leia este documento cuidadosamente e esclareceremos quaisquer dúvidas que possam surgir após a explicação. Além disso, você pode consultar as pessoas que julgar convenientes.

Você deverá assinar esse termo em duas vias, uma ficará com você e outra conosco. Todas as páginas devem ser rubricadas.

##### **2) Participação Voluntária**

Você deve saber que a participação do seu familiar neste estudo é voluntária e que é possível você decidir por não permitir a participação ou alterar a decisão e retirar o consentimento a qualquer momento do estudo, sem comprometer a relação com o médico nem prejudicar o tratamento dele. Será possível fazer todas as perguntas que quiser em qualquer momento do estudo. Você tem todo o tempo que quiser para decidir e discutir a situação com pessoas de sua confiança.

Assim que possível, seu familiar será consultado sobre seu desejo de permanecer neste estudo.

##### **3) Descrição Geral do Estudo**

Estamos convidando o seu familiar para participar desta pesquisa porque está com síndrome respiratória grave que pode ser causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV2).

A infecção pelo coronavírus ainda não tem vacina e não tem tratamento específico para matar esse vírus. Alguns medicamentos estão sendo usados, porém sem confirmação da sua utilidade para o tratamento. Alguns estudos demonstraram que a cloroquina conseguiu parar a multiplicação do

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada





vírus nos pacientes que tomaram essa medicação. Apesar dos bons resultados, não existem estudos conclusivos que comprovam o uso desse medicamento para o tratamento do COVID-19. A cloroquina é um remédio usado para o tratamento da malária desde a década de 1930. É um medicamento seguro para uso em grávidas, inclusive é o medicamento de escolha para o tratamento da malária nas gestantes. As complicações da cloroquina estão relacionadas ao uso prolongado da medicação, o que não ocorrerá neste estudo, pois o tratamento será realizado no período de, no máximo, 10 dias.

Este estudo vai acontecer no Hospital Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz, Manaus, Amazonas e em outros centros de pesquisa no Brasil. Vamos ter um total de 440 participantes incluídos.

O estudo possui apenas um grupo de tratamento que utiliza a cloroquina com dose baixa e conforme recomendação do Ministério da Saúde. Logo, se você concordar em participar do estudo, você receberá essa dose.

Você e seu médico podem receber a informação sobre o que o seu familiar está tomando a qualquer momento, se necessário para a sua saúde. Seu familiar vai tomar o medicamento do estudo (cloroquina) na dose de quatro comprimidos duas vezes ao dia, durante 10 dias por via oral ou por sonda nasoesférica (um tubo colocado pelo nariz até chegar no intestino, servirá também para te alimentar). O objetivo principal deste estudo é avaliar se o uso da cloroquina ajuda na diminuição da quantidade de mortes causados pelo novo coronavírus (COVID-19)

Além disso, esse estudo também vai avaliar:

- Se a cloroquina melhora o quadro do paciente com coronavírus (COVID-19) (tempo no hospital, tempo na Unidade de Tratamento Intensivo (UTI), necessidade de uso de aparelhos que te ajudem a respirar, incluindo o aparelho que tem um tubo junto);
- Se o novo coronavírus (COVID-19) ainda pode ser encontrado no seu organismo (sangue e secreção da boca/nariz) ao longo do acompanhamento do estudo;
- Saber a quantidade do novo coronavírus (COVID-19) no seu organismo (sangue e secreção da boca/nariz) ao longo do acompanhamento do estudo;
- Avaliar os desconfortos causados pelo novo coronavírus (COVID-19) ou pelo tratamento, incluindo sintomas e alterações no seu exame de sangue.

Durante a fase de triagem, depois de tirar todas as dúvidas e assinar esse termo, você vai fazer uma entrevista onde vamos perguntar informações sobre o seu familiar (a sua vida, o lugar onde ele mora e o histórico de saúde dele, bem como os medicamentos que ele toma no dia-a-dia. Depois ele vai passar por uma avaliação médica e fazer alguns exames para a gente saber sobre a saúde dele.

Exame físico e avaliação clínica: Faremos um exame físico no seu familiar no acolhimento do hospital. Examinaremos seus sinais vitais, incluindo, a frequência da sua respiração e coração, pressão arterial e pulso. Faremos medições da altura e peso, perguntas sobre sua saúde e uso de medicamentos. Ele será examinado pela equipe todos os dias enquanto ficar internado. Também vai ser anotado qualquer evento (alteração nova na sua saúde) que ele apresentar nesse período.

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



No 28º dia após o dia da assinatura deste termo de consentimento, caso o seu familiar não esteja internado, vamos entrar em contato por telefone para saber da saúde dele e se ele está sentindo algum desconforto.

Após a alta hospitalar, se seu familiar achar necessário por dúvida, desconforto ou outro motivo poderá entrar em contato telefônico com a equipe.

ECG: Um eletrocardiograma (ECG) será feito na admissão de entrada no hospital. Um ECG é um traçado elétrico do coração, que pode mostrar o quanto o coração está se esforçando para bater. Você ficará deitado com as pernas dobradas durante 05 minutos e em seguida fará o eletrocardiograma. O ECG será feito todos os dias enquanto você ficar hospitalizado.

Coleta de sangue: O sangue será coletado para realização de diferentes exames. Vamos coletar 20 ml de sangue do seu braço (um pouco mais que uma colher de sopa). Esses exames incluem testes para saber se tem o novo coronavírus (COVID-19) e para saber sobre a sua saúde. Também vamos guardar um pouco do seu sangue para fazer exames depois e saber mais desta doença. Os exames de sangue do seu familiar serão feitos todos os dias até a alta para casa.

Swab orofaríngeo/nasal (espécie de cotonete): esse exame serve para saber se o seu familiar tem o vírus; é um exame simples em que passa essa espécie de cotonete na sua boca e nariz e colhe um pouco da secreção. Vai ser feito até a alta dele para saber se o vírus já foi eliminado.

Teste de gravidez: se o seu familiar for mulher, vamos coletar um pote de urina (aproximadamente duas colheres de sopa) para um teste de gravidez. Esse exame será feito no primeiro dia do seu atendimento médico.

Exames de imagem: o médico vai avaliar seu familiar e se for preciso ele vai fazer exames de imagem, como radiografia (Raio-x), tomografia ou ressonância magnética.

Internação: Seu familiar vai ficar internado por causa do quadro da sua doença respiratória, para ter todo suporte médico necessário até sua melhora. Caso seja necessário, de acordo com a avaliação médica, o seu familiar precisar de alguma ajuda para respirar, ele vai ser internado na unidade de terapia intensiva (UTI), uma parte do hospital em que são internados os pacientes mais graves e que precisam de aparelho para acompanhar a sua saúde ou para ajudar ele a respirar; nesse momento ele poderá ser sedado (medicamento para dormir). Esses procedimentos são necessários em alguns casos e serão realizados pela equipe de saúde treinada e que já trabalham na UTI e cuidam dos pacientes graves.

Durante esse período em que o seu familiar permanecer sedado (dormindo) continuaremos acompanhando o paciente pelos exames e tomando as medidas necessárias para que ele fique bem.

#### **4) Benefícios e Riscos Derivados de sua Participação no Estudo**

Benefícios: Estudos recentes demonstraram que a cloroquina tem um benefício no tratamento de pessoas com infecção pelo novo coronavírus (COVID-19), porém ainda é cedo para

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



afirmar se essa medicação ajuda a melhorar os pacientes graves. Se o seu familiar participar deste estudo, talvez haja um benefício direto para ele, mas não se pode dar qualquer garantia. Seu familiar pode se beneficiar com o uso do medicamento, mas também é possível que não receba nenhum benefício por estar neste estudo, porque o medicamento pode não funcionar. As informações obtidas com este estudo podem ajudar outras pessoas com síndrome respiratória e que apresentem um caso grave da doença

Riscos: Alguns incômodos e desconfortos podem ocorrer enquanto ele estiver participando do estudo. Estes desconfortos podem ser:

Risco de origem psicológica, intelectual e emocional: existe a possibilidade de vergonha, desconforto, medo, estresse, quebra de sigilo e anonimato (divulgar os seus dados pessoais). Para minimizar esses riscos, os participantes serão anonimizados (não constará o seu nome e sim um código para cada paciente) e a equipe é treinada para o acolhimento e a realização de entrevistas de forma segura.

Ventilação Mecânica: A ventilação mecânica (VM) ou suporte ventilatório pode ser usado com uma máscara de oxigênio ligada a uma máquina que vai ajudar na respiração (chamada de ventilação mecânica não invasiva) ou pode ser colocado um tubo na traqueia (parte do corpo de passa o ar para os pulmões) e ligar o tubo na máquina para melhorar a respiração (chamada de ventilação mecânica invasiva). A VM serve para o tratamento de pacientes com insuficiência respiratória aguda ou crônica agudizada (dificuldade para respirar). A escolha de fazer não invasiva ou invasiva depende da avaliação do médico que atenderá o paciente. Os riscos da VM é uma possível infecção por bactérias; para diminuir esse risco, seu familiar será examinado diariamente, caso apresente algum sinal de infecção será tratado imediatamente.

Internação: Seu familiar pode se sentir inquieto por causa da internação, mas faremos o possível para minimizar algum desconforto ao longo desse período. Nossa equipe ficará à disposição. É importante que os familiares saibam, que a internação é para segurança e melhor tratamento dele.

Intubação Orotraqueal (aparelho com tubo acoplado): é um procedimento pelo qual o médico introduz um tubo na traqueia (parte do corpo que passa o ar para chegar no pulmão) do paciente, através da boca, para mantê-lo respirando quando alguma condição impede sua respiração espontânea. Para fazer esse procedimento o seu familiar será sedado (aplicado um remédio para ele dormir e não sentir dor) e assim diminuir o desconforto. Existem riscos nesse procedimento e ao longo do tempo que ele estiver usando esse aparelho, como: o processo de sedação (incômodo da picada e alterações do batimento do seu coração), falta de oxigênio e aumento de gases tóxicos no seu sangue, vômito, aspiração do suco gástrico (quando a pessoa tem uma espécie de ânsia de vômito e, ao retornar, o suco gástrico vai para os pulmões) e feridas na boca e corda vocal. Toda a equipe é treinada e capacitada para realização desse procedimento e minimizaremos ao máximo os riscos.

Coleta de sangue: A picada para a coleta de sangue pode causar dor no local da punção, vermelhidão na pele no local da picada, sangramento ou, raramente, infecção na área. Algumas

---

Rubrica do Representante Legal

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



As pessoas podem sentir tonturas durante a punção. Se qualquer uma dessas situações ocorrer, a equipe está capacitada para atender o seu familiar. É importante te dizer que a equipe é treinada e orientada da melhor forma possível para evitar que esses inconvenientes ocorram. Nossos materiais também são esterilizados e de uso individual.

Coleta de secreção da boca e nariz: Seu familiar pode sentir um leve desconforto ao colocarmos o swab (uma espécie de cotonete) na sua boca e nariz para coletar secreção, mas será breve e a equipe é treinada para evitar ao máximo que isso aconteça. Os materiais são esterilizados e descartáveis.

Radiografia: os principais riscos associados com radiografia são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzido por radiação. Esses riscos são minimizados utilizando-se a proteção de chumbo adequada na hora da realização do exame e essa possibilidade é quase nula no caso do estudo, pois ele será exposto poucas vezes a esse exame.

Tomografia Computadorizada: Existe a possibilidade de seu familiar sentir uma leve claustrofobia (medo de ficar em ambiente apertado), mas sua cabeça e seu rosto ficam para o lado de fora. Ficando exposto à radiação por um breve período de tempo. Seus principais riscos são a pequena possibilidade de desenvolver, em alguma época posterior da vida, catarata ou câncer induzido por radiação. Esta radiação deve ser mantida no nível mais baixo possível e dentro desses limites não há risco.

Ressonância Magnética: Seu familiar pode sentir uma leve claustrofobia (medo de ficar em ambiente apertado), mas sua cabeça e seu rosto ficam para o lado de fora. O barulho pode incomodar um pouco, mas para minimizar este desconforto ofereceremos tampões de ouvido. Esse procedimento não usa radiação. Se ele tiver marcapasso ou fixadores ortopédicos deve avisar, pois não poderá realizar este procedimento.

Eletrocardiograma: é um procedimento totalmente seguro. Não há riscos de choque. Pode haver um pequeno desconforto quando são removidas as bandagens e há um pequeno risco de irritação na pele pelo contato com os eletrodos. Para evitar que isso ocorra sempre limparemos bem a área local e, se necessário, rasparemos os pelos da região. Na hora de retirar os eletrodos, faremos com muita cautela e com álcool, que facilita a retirada.

Tratamento com cloroquina: o medicamento quando tomado pela boca, pode fazer sentir um gosto amargo. Além disso, ele poderá ter desconfortos como: dor de cabeça, dor no estômago, enjoo, coceira, alterações no seu coração, na sua visão, no seu humor e no seu exame de sangue (nas enzimas do fígado). Esses desconfortos não são comuns, mas para minimizá-los faremos eletrocardiograma periodicamente, exames físicos e de sangue para acompanhamento. Caso tenha necessidade, também podemos passar medicamento para os sintomas.

Riscos do jejum: Algumas pessoas podem ficar incomodadas por ficarem sem comer muito tempo (jejum). Isso pode fazer seu familiar se sentir ansioso, irritável ou com fome. Vamos evitar que ele fique sem comer por muito tempo, só quando for necessário.

Riscos desconhecidos: Outros efeitos colaterais ainda não conhecidos neste momento podem acontecer durante o estudo. Durante o estudo, você será informado sobre quaisquer novas informações que possam afetar a sua decisão de deixar o seu familiar permanecer no estudo.

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



### 5) Acompanhamento e assistência

Se o seu familiar sofrer algum dano ou intercorrência, você deve falar para alguém da equipe da pesquisa imediatamente ou em caso de emergência, poderá contatar diretamente Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda, médico e pesquisador do estudo, através do telefone (92) 99114-7633.

Nós lhe daremos toda assistência integral e gratuita para o seu familiar necessária para garantir seu bem-estar. Os médicos e enfermeiros da pesquisa irão garantir que ele receba assistência imediata caso tenha quaisquer tipos de danos, diretos ou indiretos, imediatos ou tardios, sofridos no decorrer de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste documento.

### 6) Confidencialidade

Ao dar o seu consentimento para o seu familiar participar deste estudo, os dados de seu prontuário médico, bem como os provenientes da participação no estudo, serão coletados, transferidos, utilizados e processados pelo médico do estudo e por sua equipe, assim como pelo patrocinador e pelas empresas que colaboram com ele. Este termo de consentimento ficará armazenado junto ao prontuário médico do seu familiar no centro de pesquisa. O acesso ao prontuário médico será restrito ao médico do estudo e à sua equipe, às autoridades sanitárias e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Todas as informações coletadas no estudo que possam ferir a privacidade do seu familiar serão anonimizadas (isto é, ocultadas) e, caso seja necessário encaminhamento das informações dele para o patrocinador ou empresas que colaborem com ele, eles jamais saberão nada sobre a identidade dele. Sob nenhuma circunstância serão feitas cópias do prontuário médico. Todas as pessoas que terão acesso ao prontuário têm a obrigação de garantir a confidencialidade inerente a sua profissão.

As informações sobre a participação do seu familiar neste estudo serão associadas ao seu familiar através de um número de identificação individual. Apenas o médico e a equipe da pesquisa poderão relacionar tal número com o seu familiar em qualquer momento.

No contexto desta pesquisa clínica, o processamento de dos dados médicos será feito para analisar os resultados da pesquisa. Para tanto, as informações médicas do seu familiar não incluirão dados pessoais que permitam a identificação do seu familiar e serão transferidas para o patrocinador da pesquisa e/ou para pessoas ou empresas que atuam em seu nome e/ou parceiros acadêmicos e industriais do estudo (aqui ou no exterior) com a finalidade específica de colaboração científica para pesquisa e/ou desenvolvimento. Estes dados também podem, em condições que garantam a sua confidencialidade, ser comunicados às autoridades de saúde locais e estrangeiras.

Ao assinar este termo de consentimento, você permitirá ao médico do estudo e à equipe de pesquisa usar informações do prontuário médico do seu familiar para os objetivos do presente estudo. Toda a equipe médica e de enfermagem envolvida no cuidado dele saberá se o seu familiar participa ou não do estudo. Qualquer informação obtida em relação a este projeto que possa identificá-lo será mantida em sigilo e não será compartilhada sem a sua permissão, exceto quando exigido por lei. Na divulgação dos resultados desse estudo, o nome do seu familiar não será citado.

Em caso de dúvidas sobre a coleta e o uso de suas informações, entre em contato com o médico do estudo.

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



### **7. O que ocorre com as informações obtidas no estudo**

Se decidir pela participação do seu familiar no estudo, é possível que informações relevantes sejam obtidas na análise das amostras biológicas. De acordo com as leis atuais, você tem o direito de ser informado dos dados obtidos no decorrer do estudo. Caso seja solicitado, poderemos lhe fornecer informações sobre o estudo no que diz respeito ao uso dos dados.

### **8) O que acontecerá com as amostras de sangue e de secreção da orofaringe/nasal**

As amostras de sangue e secreção da boca e nariz obtidos serão utilizadas para a realização dos seus exames conforme explicado.

O material coletado será concedido para o correto gerenciamento e utilização por parte do pesquisador para fins deste estudo e, por isso, ele não terá valor comercial. Além disso, você não receberá qualquer compensação financeira ou de outro tipo de benefício.

Solicitamos seu consentimento para guardar as amostras do seu familiar durante o período do estudo e para futuros exames que, porventura possam ser oportunas se aprovadas pelo Comitê de Ética e/ou Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Esse armazenamento será feito em um biorrepositório (local onde são armazenadas as amostras) localizado no Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, na Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, localizado na Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM.

As amostras sanguíneas e de secreção da boca e nariz do seu familiar serão armazenadas por 5 anos depois da data da assinatura deste termo e depois serão descartadas.

O seu consentimento poderá ser retirado a qualquer momento do estudo e sua amostra descartada. Neste caso, a retirada do consentimento de guarda das amostras biológicas humanas armazenadas em banco deverá ser realizada por escrito e assinada, conforme o item 10.I da Resolução 441 de 2011.

### **9) Ressarcimento**

Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo para você e o seu familiar. Os acompanhamentos médicos após a alta hospitalar serão realizados por telefone; se necessário, você receberá um ressarcimento pelos gastos relacionados à sua participação no estudo, com crédito telefônico.

Apesar de não haver compensação financeira, ao assinar este termo de consentimento você não abrirá mão de nenhum dos direitos legais do seu familiar, garantidos na regulamentação brasileira de pesquisa envolvendo seres humanos, sendo um dos direitos a solicitação de indenização.

### **10) Outras Informações Relevantes**

Você não terá que pagar pelo medicamento do estudo utilizado pelo seu familiar. Qualquer nova informação referente ao medicamento utilizado no estudo que seja descoberta durante a participação dele, e que possa afetar a disposição em participar no estudo, lhe será comunicada por seu médico o quanto antes. Com a desistência de participar do estudo, o médico responsável pelo seu familiar lhe recomendará outros tratamentos. Seu médico conversará com você sobre as alternativas que estão disponíveis. Seu familiar não precisa participar deste estudo para receber tratamento. Se você desistir da participação do seu familiar no estudo, nenhum dado novo será

---

Rubrica do Representante Legal

---

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



adicionado ao banco de dados e você poderá solicitar a destruição de todas as amostras identificáveis e anteriormente retidas para evitar a realização de novas análises.

Seu familiar pode ser excluído do estudo se os pesquisadores considerarem oportuno, tanto por razões de segurança, por qualquer desconforto que ocorra pela medicação do estudo ou por considerar que ele não está cumprindo os procedimentos solicitados pela equipe do estudo. Em todos os casos, você receberá uma explicação adequada do motivo que ocasionou a retirada dele do estudo. Além disso, o estudo também pode ser cancelado por razões administrativas.

Ao assinar este Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, você autoriza que cumpramos com os procedimentos do estudo que foram explicados.

#### 11) Contato:

Para obter mais informações sobre este estudo ou para qualquer informação adicional sobre os direitos do seu familiar como participante, ou se você quiser fazer uma reclamação, por favor, entre em contato com o pesquisador responsável do estudo: **Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda**, no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM; telefone (92) 99114-7633; e-mail [marcuslacerda.br@gmail.com](mailto:marcuslacerda.br@gmail.com).

Em caso de dúvidas, denúncias ou reclamações sobre a participação do seu familiar e sobre questões éticas do estudo, você pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisas (CEP) da Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado; e-mail: [cep@fmt.am.gov.br](mailto:cep@fmt.am.gov.br); endereço: na Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM; telefone: (92) 2127-3572. O horário de funcionamento do CEP é de 8 às 14 horas, de segunda à sexta-feira.

Além disso, você pode entrar em contato com a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa.

#### **Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)**

SRTV 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar – Asa Norte CEP:  
70719-040, Brasília-DF  
Telefone: (61) 3315-5877  
e-mail: [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br)

A CONEP e os CEP têm composição multidisciplinar com participação de pesquisadores, estudiosos de bioética, juristas, profissionais de saúde, das ciências sociais, humanas e exatas e representantes de usuários.

O CEP tem como principal função defender os seus interesses como participante de pesquisa em sua integridade, segurança, bem-estar e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos.

A CONEP tem função consultiva, deliberativa, normativa e educativa, atuando junto com os CEPs.

---

Rubrica do Representante Legal

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



### III. Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu (nome completo), \_\_\_\_\_ CPF: \_\_\_\_\_

- Tive a oportunidade de tirar dúvidas sobre o estudo para o qual meu familiar foi convidado.
- Recebi informações suficientes sobre o estudo do qual meu familiar vai participar.
- Fui informado que meu familiar manifestará seu desejo de continuar ou não no estudo assim que possível
- Serei informado regularmente sobre qualquer informação que possa afetar a disponibilidade do meu familiar em continuar a participação no estudo.
- Autorizo o acesso às informações confidenciais do meu familiar.
- Autorizo o processamento de informações e amostras do meu familiar.
- Entendo que receberei uma via deste termo.
- Entendo que a participação do meu familiar é voluntária.
- Entendo que posso retirar o consentimento do meu familiar e concluir sua participação:
- Em qualquer momento
- Sem dar qualquer explicação
- Sem que prejudique seu tratamento posterior

Ofereço livremente o acordo para meu familiar participar deste estudo e dou o meu consentimento para acessar e usar os seus dados nas condições descritas neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

( ) SIM ( ) NÃO

Concordo que suas amostras serão armazenadas para um biorrepositório e autorizo contato, caso necessário, para futuros estudos que possam ocorrer aprovados pelo CEP e, quando necessário, pela CONEP.

( ) SIM ( ) NÃO

Representante Legal do Participante da Pesquisa

Pesquisador ou pessoa por ele delegada

Grau de Parentesco: \_\_\_\_\_ Nome: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_ Assinatura: \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_\_

*(Este documento será assinado em duas vias originais, ficando uma original com o pesquisador e a outra original com o participante da pesquisa)*

<p style="text-align: center;"><b>Testemunha imparcial (se aplicável)</b></p> <p><b>Nome:</b> _____</p> <p><b>Assinatura:</b> _____</p> <p><b>Data:</b> _____</p>	<p style="text-align: center;"><b>Impressão datiloscópica do representante legal</b></p>
---	--

Rubrica do Representante Legal

Rubrica da Testemunha Imparcial  
(se aplicável)

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



## ANEXO 4 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – Necrópsia



### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO- NECRÓPSIA

**Estudo:** Estudo de fase IIb para avaliar eficácia e segurança do difosfato de cloroquina no tratamento de pacientes hospitalizados com síndrome respiratória grave no âmbito do novo coronavírus (SARS-CoV2): um ensaio clínico, duplo-cego, randomizado, controlado com placebo

**Patrocinador:** Secretaria Estadual de Saúde do Amazonas

**Centro de Pesquisa:** Fundação de Medicina Tropical Doutor Vieira Dourado – FMT-HVD

**Pesquisador Principal:** Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda

**Co-Investigador Principal:** Dra. Mayla Gabriela Silva Borba

**Telefone de contato:** (92) 99302 9272

Pelo \_\_\_\_\_ presente \_\_\_\_\_ instrumento, eu, \_\_\_\_\_, responsável por \_\_\_\_\_, declaro ter sido informado (a) claramente sobre o procedimento de realização de necropsia solicitada ao meu familiar e aceito a participação no estudo.

O exame de necropsia consiste na inspeção externa e na avaliação interna dos órgãos. Para maiores conclusões diagnósticas o patologista realiza exame externo cuidadoso. Em seguida, o corpo é aberto para avaliar e examinar os órgãos internos. Esses órgãos são removidos e pesados e uma amostra pequena é retirada para posterior exame histológico dos tecidos no microscópio. O corpo é então fechado e encaminhado ao serviço funerário para o sepultamento. Após o exame de autópsia a declaração de óbito será preenchido pelo médico patologista para posterior sepultamento. O laudo definitivo é entregue em até trinta dias úteis, na Gerência de Patologia do Hospital e Pronto Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz.

\_\_\_\_\_  
Rubrica do Responsável

\_\_\_\_\_  
Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



### **Participação Voluntária**

Você deve saber que a permissão para realizarmos esse estudo é voluntária e que é possível decidir por não permitir, sem comprometer qualquer tipo de relação com a equipe do estudo ou prejuízo qualquer.

Será possível fazer todas as perguntas que quiser em qualquer momento desde o presente momento até o momento da entrega do atestado de óbito. Você tem todo o tempo que quiser para decidir e discutir a situação com pessoas de sua confiança.

### **Benefícios e Riscos Derivados de sua Participação no Estudo**

A participação neste estudo não trará benefício para você no momento, mas o conhecimento extraído no estudo poderá ajudar outras pessoas com o novo coronavírus no futuro. Faremos de tudo para minimizar o desconforto trazido por esse estudo, que pode lhe causar tristeza e ansiedade pela espera do laudo e lembranças sobre este momento de luto. Nossa equipe está à disposição através do telefone, ou você pode ir ao hospital em qualquer momento que lhe atenderemos, que iremos lhe apoiar.

### **Confidencialidade**

Ao dar o consentimento para realização desse estudo, os dados provenientes deste estudo, serão coletados, transferidos, utilizados e processados pelo médico do estudo e por sua equipe, assim como pelo patrocinador e pelas empresas que colaboram com ele. Este termo de consentimento ficará armazenado junto ao prontuário médico no centro de pesquisa. O acesso ao resultado do exame será restrito ao médico do estudo e à sua equipe, às autoridades sanitárias e à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa. Todas as informações coletadas no estudo que possam ferir a privacidade de seu familiar serão anonimizadas (isto é, ocultadas) e, caso seja necessário encaminhamento destas informações para o patrocinador ou empresas que

---

Rubrica do Responsável

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



colaborem com ele, eles jamais saberão nada sobre a identidade. Todas as pessoas com acesso ao prontuário e ao laudo do exame têm a obrigação de garantir a confidencialidade inerente a sua profissão. O acesso ao prontuário médico e ao laudo só serão autorizados sob a supervisão do médico do estudo ou de sua equipe.

As informações sobre a sua participação neste estudo serão associadas ao seu familiar através de um número de identificação individual. Apenas o médico e a equipe da pesquisa poderão relacionar tal número com seu familiar em qualquer momento. No contexto desta pesquisa clínica, o processamento desses resultados será feito para analisar os resultados da pesquisa. Para tanto, as informações médicas não incluirão dados pessoais que permitam a identificação do seu familiar. Estes dados também podem, em condições que garantam a sua confidencialidade, ser comunicados às autoridades de saúde locais e estrangeiras.

Ao assinar este termo de consentimento, você permite aos pesquisadores do estudo usar informações sobre o prontuário médico do seu familiar e do resultado desse estudo para os objetivos do presente estudo. Qualquer informação obtida em relação a este projeto que possa identificá-lo será mantida em sigilo e não será compartilhada sem a sua permissão, exceto quando exigido por lei. Na divulgação dos resultados desse estudo, o nome de seu familiar não será citado.

Em caso de dúvidas sobre a coleta e o uso dessas informações, entre em contato com o médico do estudo.

### **Ressarcimento**

Os exames e procedimentos realizados exclusivamente com fins de pesquisa não implicarão qualquer custo para você e sua família.

Nós lhe daremos toda assistência integral e gratuita e que for necessária para garantir seu bem-estar. Os médicos e enfermeiros da pesquisa irão garantir que você receba assistência imediata caso tenha quaisquer tipos de danos, diretos ou indiretos,

---

Rubrica do Responsável

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



imediatos ou tardios, sofridos no decorrer de sua participação na pesquisa, previsto ou não neste documento.

### **Contato**

Para obter mais informações sobre este estudo ou para qualquer informação adicional sobre os seus direitos como participante, ou se você quiser fazer uma reclamação, por favor, entre em contato com o pesquisador responsável do estudo: Dr. Marcus Vinícius Guimarães de Lacerda, no endereço Av. Pedro Teixeira, 25 - Dom Pedro, Manaus - AM; telefone (92) 99302-9272; e-mail [marcuslacerda.br@gmail.com](mailto:marcuslacerda.br@gmail.com). Em caso de dúvidas, denúncias ou reclamações sobre a sua participação e sobre questões éticas do estudo, você pode entrar em contato com o Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP). O horário de funcionamento da CONEP é de 8 às 14 horas, de segunda à sexta-feira.

#### **Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP)**

Coordenadora interina: Dr. Gyselle Saddi Tannous

Secretária-Executiva: Eliane Aparecida da Cruz

Ministério da Saúde - Esplanada dos Ministérios Edifício Anexo Bl. G Ala B Sl. 13-B

Cep: 70.058-900 Brasília - DF

Telefone: (61) 3315-2951

Telefax: (61) 3226-6453

e-mail: [conep@saude.gov.br](mailto:conep@saude.gov.br)

A CONEP e os CEP têm composição multidisciplinar com participação de pesquisadores, estudiosos de bioética, juristas, profissionais de saúde, das ciências sociais, humanas e exatas e representantes de usuários.

O CEP tem como principal função defender os seus interesses como participante de pesquisa em sua integridade, segurança, bem-estar e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro dos padrões éticos.

---

Rubrica do Responsável

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



A CONEP tem função consultiva, deliberativa, normativa e educativa, atuando junto com os CEPs.

## II- Assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Eu (nome completo), \_\_\_\_\_

CPF: \_\_\_\_\_

Grau de Parentesco: \_\_\_\_\_

- Tive a oportunidade de tirar dúvidas sobre o estudo.
- Recebi informações suficientes sobre o estudo.
- Autorizo o acesso às informações confidenciais do meu familiar.
- Autorizo fotografias dos órgãos internos e de lesões externas, sem o aparecimento do rosto de meu familiar
- Entendo que receberei uma via deste termo.
- Entendo que a autorização para realização desse estudo é voluntária.
- Entendo que posso retirar o meu consentimento:
  1. Em qualquer momento
  2. Sem dar qualquer explicação
  3. Sem que prejudique meu acesso posterior ao hospital

Ofereço livremente o meu acordo para autorizar a realização deste estudo e dou o meu consentimento para acessar e usar os dados de meu familiar nas condições descritas neste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

( ) SIM      ( ) NÃO

Concordo com os registros fotográficos e autorizo contato, caso necessário, para futuros estudos que possam ocorrer.

( ) SIM      ( ) NÃO

\_\_\_\_\_  
Rubrica do Responsável

\_\_\_\_\_  
Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada



Responsável Legal do Participante de Pesquisa

Pesquisador ou pessoa por ele delegada

Nome: \_\_\_\_\_  
 Assinatura: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_\_

Nome: \_\_\_\_\_  
 Assinatura: \_\_\_\_\_  
 Data: \_\_\_\_\_

<p style="text-align: center;"><b>Testemunha imparcial (se aplicável)</b></p> <p><b>Nome:</b> _____  <b>Assinatura:</b> _____  <b>Data:</b> _____</p>	<p style="text-align: center;"><b>Impressão datiloscópica</b></p>
---	---

---

Rubrica do Responsável

---

Rubrica do Pesquisador ou da  
Pessoa Delegada

## ANEXO 5 - Artigo da dissertação

*Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 106(2), 2022, pp. 571–573  
doi:10.4269/ajtmh.21-1009  
Copyright © 2022 by The American Society of Tropical Medicine and Hygiene

### COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in a Series of Complete Autopsies from the Brazilian Amazon

Maria Eduarda Farias,<sup>1,2</sup> Monique Freire Santana,<sup>1,3,4</sup> Luiz Ferreira,<sup>1,3,5</sup> Mayla Borba,<sup>3</sup> João Silva-Neto,<sup>1</sup> José Diego Brito-Sousa,<sup>1,3</sup> Djane Clarys Baía-da-Silva,<sup>1,2,3</sup> Guilherme Pivoto João,<sup>3</sup> Fernando Val,<sup>1,3</sup> Mariana Simão,<sup>1</sup> João Vicente Souza,<sup>6</sup> Felipe Naveca,<sup>2</sup> Gisely Melo,<sup>1,3</sup> Wuelton Monteiro,<sup>1,3</sup> and Marcus Lacerda<sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup>Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil; <sup>2</sup>Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, Brazil; <sup>3</sup>Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil; <sup>4</sup>Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas, Manaus, Brazil; <sup>5</sup>Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil; <sup>6</sup>Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil

**Abstract.** Between April and July 2020, and, therefore, prior to the broad recommendation of corticosteroids for severe COVID-19, a total of 50 full autopsies were performed in Manaus. We confirmed two invasive cases of aspergillosis through histopathology and gene sequencing (4%) in our autopsy series. The confirmed invasive aspergillosis incidence seems much lower than expected based on the “probable and possible” definitions, and an individualized approach should be considered for each country scenario. Interestingly, a prolonged length of stay in the intensive care unit was not observed in any of the cases. Timely diagnosis and treatment of fungal infection can reduce mortality rates.

Secondary infections reported in severe acute respiratory disease coronavirus 2 (SARS-CoV-2)-infected patients, such as invasive mold disease (IMD), have been well documented in influenza patients, in whom they lead to clinical deterioration and mortality, and require intensive care.<sup>1</sup> However, there is uncertainty in the literature about whether COVID-19 predisposes to such invasive fungal diseases.<sup>2</sup>

The attempt to estimate the frequency of IMD using the gold standard method (i.e., postmortem examination) showed an IMD worldwide average of 2%, with a predominance of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis (CAPA), in a systematic review of autopsies performed in COVID-19 deceased patients.<sup>3</sup> However, CIs were obviously wide because of the limited number of autopsies performed and varying regional incidence.

That review only included two collated studies from Latin America, with 16 minimally invasive autopsies from southern Brazil, in which no IMD was reported.<sup>4,5</sup> In Manaus, one of the first Brazilian capitals to experience the health system collapse triggered by the first wave of COVID-19, in April 2020, a series of complete diagnostic autopsies were performed in a referral unit. Informed consent was signed by legal representatives. The identification of species through molecular methodologies was carried out according to a previously described methodology.<sup>6</sup>

Between April and July 2020, and, therefore, prior to the broad recommendation of corticosteroids for severe COVID-19, 50 complete autopsies were performed (unpublished data). All autopsies presented a clinical picture of severe respiratory distress. In addition, SARS-CoV-2 infection was confirmed in 39 (78%) by reverse transcriptase quantitative real-time polymerase chain reaction, and in 11 (22%) by positive IgM. Of the 50 autopsies, one COVID-19 patient identified with *Aspergillus penicillioides* was reported elsewhere<sup>6</sup> (case 1). We also report a second case in which *Aspergillus* sp. was identified (case 2). Therefore, we have

confirmed two invasive CAPA cases through histopathology and gene sequencing (2 of 50, 4%) in our autopsy series. Clinical characteristics are presented in Table 1. In Figure 1, the histopathology of both patients' lungs is shown. Both patients also tested positive for galactomannan antigen in the serum. No fungal extrapulmonary lesions were seen. Systematic sampling of macroscopic pulmonary lesions during cleavage was performed. No mucormycosis was diagnosed in this series, although this complication was reported in a patient with COVID-19 from Manaus.<sup>7</sup> None of the patients used corticosteroids, tocilizumab, or any other immunomodulator, nor antifungal drugs.

In the overall series of 50 autopsied patients, no *Histoplasma capsulatum* was seen, and one patient evolved with candidemia. Of the 50 patients, 43 were hospitalized in the intensive care unit (ICU) from 1 to 30 days (average ICU stay, 9.8 days). Surprisingly, both patients with CAPA stayed in the ICU only 3 and 7 days.

The difficulty in diagnosing associated pulmonary diseases in COVID-19 patients because of biosafety reasons complicates the management of critically ill patients. This was particularly the case in the first half of 2020, when not much was known about the new SARS-CoV-2 infection, and health systems were collapsing.<sup>8</sup> Bronchoscopy and serological biomarker-based diagnosis (such as galactomannan), proposed by the European Confederation for Medical Mycology and the International Society for Human and Animal Mycology 2020 consensus,<sup>9</sup> even under the best biosafety practices, are burdensome and not feasible in most low-income countries, affecting possible diagnoses and leading to the underestimation of CAPA incidence.

On the other hand, even before these guidelines were published, the use of the Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients—the putative diagnosis and extrapolated definitions for influenza-related invasive aspergillosis<sup>10</sup>—could result in overestimating CAPA incidence as a result of the difficulty in distinguishing colonization from infection. Studies have reported worldwide incidences ranging from 8% to 34% in samples from patients under mechanical ventilation.<sup>10</sup> A meta-analysis reported that CAPA presented with a fatality rate of 54.9% in the ICU.<sup>10</sup>

\*Address correspondence to Marcus Lacerda, Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado, Av Pedro Teixeira 25, Manaus, Amazonas, 69040-000, Brazil. E-mail: marcuslacerda.br@gmail.com

TABLE 1  
Clinical aspects of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis in a series of autopsies

Case no.	Age, y/gender	Comorbidities	Hospitalization, d	ICU, d	MV, d	Imaging exam findings	Sequencing identified (qPCR) lung tissue	GM serum stored blood	Anticoagulant	Attributed cause of death	Radiological characteristics
1	71/male	Systemic arterial hypertension, diabetes mellitus, current smoker, alcoholism, chronic kidney disease	3	3	3	Infiltrate and nodular consolidation in the right lower lobe (chest X-rays)	<i>Aspergillus penicillioides</i>	4.29	Yes	Respiratory failure	Ground-glass nodules and subpleural consolidation
2	35/male	Obesity, alcoholism	7	7	7	Bilateral ground-glass infiltrate, bilateral consolidation, pleural effusion (CT scan)	<i>Aspergillus</i> spp.	3.62	Yes	Multiple-organ dysfunction syndrome	Bilateral infiltrate with extensive parenchymal opacities

CT = computed tomography; GM = galactomannan; ICU = intensive care unit; MV = mechanical ventilation; qPCR = quantitative polymerase chain reaction.

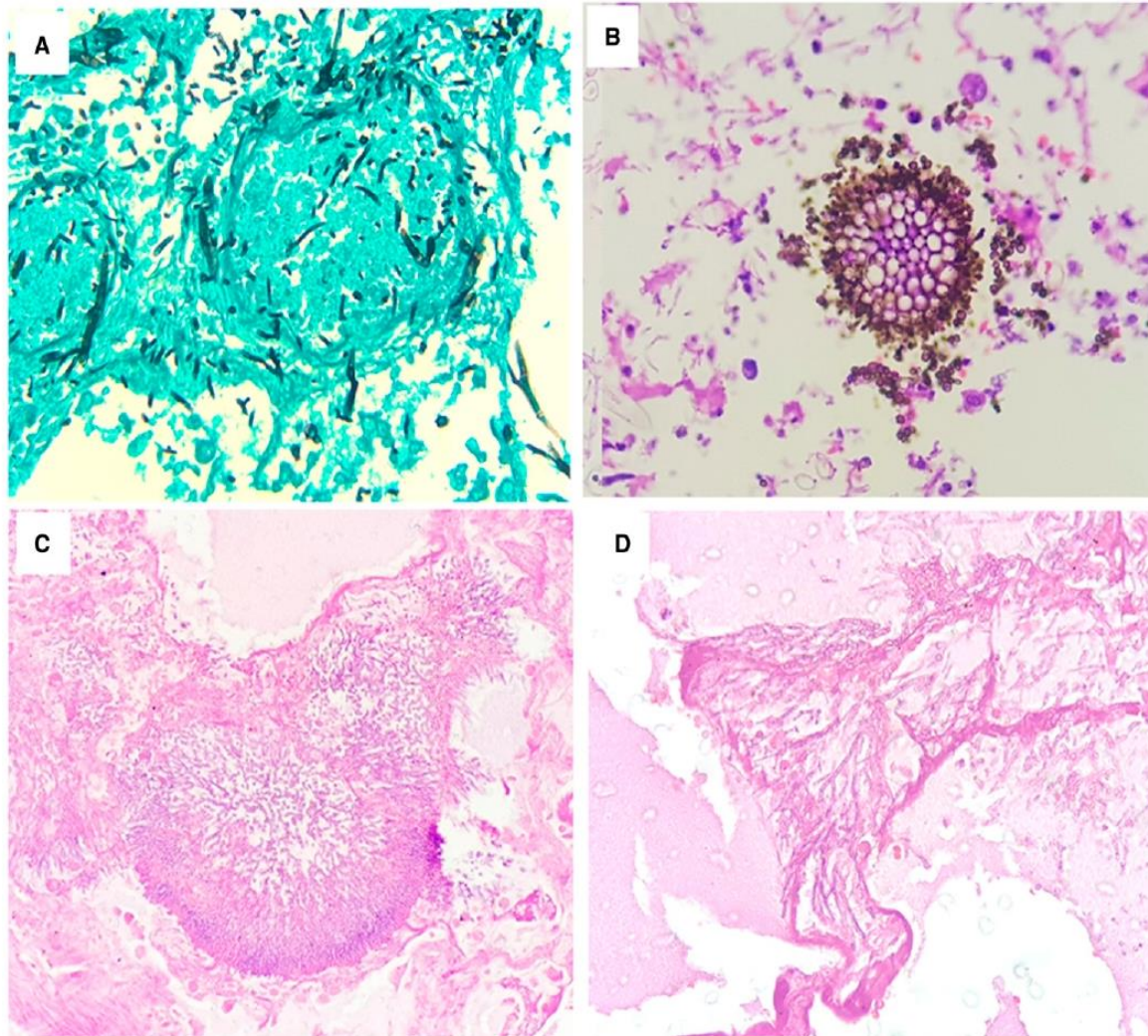


FIGURE 1. Histopathology of the lungs of the two cases of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. (A) Numerous hyphae and fungal spores. (B) *Aspergillus* head, allowing visualization of phialides and conidia, with numerous fungal spores. (C) Numerous hyphae and fungal spores. (D) Presence of fungal hyphae compatible with *Aspergillus* sp. This figure appears in color at [www.ajtmh.org](http://www.ajtmh.org).



Brazil, with a vast continental territory, has diverse epidemiological scenarios. The finding of a 4% CAPA incidence in our autopsy series may reflect a better sensitivity of full autopsy analysis, because scattered *Aspergillus*-related lesions may challenge diagnoses when a minimally invasive autopsy is performed. Alternatively, there may be a local higher CAPA incidence in the Amazon compared with southern Brazilian states.

Our finding (4% CAPA incidence) seems to be in the same CI of the meta-analysis published elsewhere (2%).<sup>3</sup> However, this relatively low incidence should not discourage *Aspergillus* clinical/radiological suspicion in critically ill COVID-19 patients, because coinfection may lead to increased fatality rates. We do not believe that CAPA was a key contributor to the high fatality rates seen in Manaus, which were probably a mere reflex of the lack of preparedness. CAPA incidence confirmed by autopsies seems much lower than expected based on the “probable and possible” definitions, and an individualized approach should be considered for each country scenario. Timely diagnosis and treatment of fungal infection can reduce mortality rates, especially in older patients with underlying diseases. Universal presumptive treatment is still a matter of debate.

Received September 21, 2021. Accepted for publication November 9, 2021.

Published online January 7, 2022.

**Acknowledgments:** We thank the staff of the Pathology Department of Universidade Federal do Amazonas and Hospital e Pronto-Socorro Delphina Rinaldi Abdel Aziz. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene has waived the Open Access fee for this article due to the ongoing COVID-19 pandemic and has assisted with publication expenses.

**Financial support:** This study was funded by Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior; Departamento de Ciência e Tecnologia/Ministério da Saúde; Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações; Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (grant no. 403253/2020-9); Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amazonas; Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical; and Pró-Estado public calls.

**Disclaimer:** M. V. G. L. and W. M. M. are Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico fellows.

**Authors' addresses:** Maria Eduarda Farias, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, and Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, Brazil, E-mail: meduardaleaof@gmail.com. Monique Freire Santana, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil, and Departamento de Ensino e Pesquisa, Fundação Centro de Controle de Oncologia do Amazonas, Manaus, Brazil, E-mail: monique.freire20@gmail.com. Luiz Ferreira, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil, and Departamento de Patologia e Medicina Legal, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, Brazil, E-mail: ferreira.luiz@gmail.com. Mayla Borba and Guilherme Pivoto

João, Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil, E-mails: maylagsborba@gmail.com and guilhermepivoto@hotmail.com. João Silva-Neto and Mariana Simão, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, E-mails: joaoricardosilvaneto23@gmail.com and marianasimaoxavier@gmail.com. José Diego Brito-Sousa, Fernando Val, Gisely Melo, and Wuelton Monteiro, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, and Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil, E-mails: sousajdb@live.com, ffaval@gmail.com, cardosogisely@gmail.com, and wueltonmm@gmail.com. Djane Clarys Baía-da-Silva and Marcus Lacerda, Instituto de Pesquisa Clínica Carlos Borborema, Fundação de Medicina Tropical Dr. Heitor Vieira Dourado, Manaus, Brazil, Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, Brazil, and Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Universidade do Estado do Amazonas, Manaus, Brazil, E-mails: djane.claryss@gmail.com and marcuslacerda.br@gmail.com. João Vicente Souza, Instituto de Pesquisas da Amazônia, Manaus, Brazil, E-mail: joao.souza@inpa.gov.br. Felipe Naveca, Instituto Leônidas & Maria Deane, Fundação Oswaldo Cruz, Manaus, Brazil, E-mail: felipe.naveca@fiocruz.br.

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution (CC-BY) License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

## REFERENCES

- Schauwvlieghe AFAD et al., 2018. Invasive aspergillosis in patients admitted to the intensive care unit with severe influenza: a retrospective cohort study. *Lancet Respir Med* 6: 782–792.
- Segrelles-Calvo G et al., 2021. Prevalence of opportunistic invasive aspergillosis in COVID-19 patients with severe pneumonia. *Mycoses* 64: 144–151.
- Kula BE, Clancy CJ, Nguyen MH, Schwartz I, 2021. Invasive mould disease in fatal COVID-19: a systematic review of autopsies. *Lancet Microbe* 2: e405–e414.
- Duarte-Neto A et al., 2020. Pulmonary and systemic involvement in COVID-19 patients assessed with ultrasound-guided minimally invasive autopsy. *Histopathology* 77: 186–197.
- Nagashima S et al., 2020. Endothelial dysfunction and thrombosis in patients with COVID-19: brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 40: 2404–2407.
- Santana MF et al., 2020. Confirmed invasive pulmonary aspergillosis and COVID-19: the value of postmortem findings to support antemortem management. *Rev Soc Bras Med Trop* 53: 1–4.
- Bonates P et al., 2021. Fatal rhino-orbito-cerebral mucormycosis infection associated with diabetic ketoacidosis post-COVID-19. *Rev Soc Bras Med Trop* 54: e0358.
- Permpalung N, Maertens J, Marr KA, 2021. Diagnostic dilemma in COVID-19-associated pulmonary aspergillosis. *Lancet Infect Dis* 21: 766–767.
- Alanio A, Dellière S, Fodil S, Bretagne S, Mégarbane B, 2020. Prevalence of putative invasive pulmonary aspergillosis in critically ill patients with COVID-19. *Lancet Respir Med* 8: e48–e49.
- Mitaka H, Kuno T, Takagi H, Patrawalla P, 2021. Incidence and mortality of COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: a systematic review and meta-analysis. *Mycoses* 64: 993–1001.

## ANEXO 6 – Artigos publicados durante o curso de mestrado

1. Santana MF, Borba MGS, Baía-da-Silva DC, Val F, Alexandre MAA, Brito-Sousa JD, Melo GC, Queiroga MVO, **Farias MEL**, Camilo CC, Naveca FG, Xavier MS, Monteiro WM, João GAP, Hajjar LA, Ordi J, Lacerda MVG, Ferreira LCL. Case Report: Adrenal Pathology Findings in Severe COVID-19: An Autopsy Study. *Am J Trop Med Hyg.* 2020 Oct;103(4):1604-1607.
2. Jeronimo CMP, **Farias MEL**, Val FFA, Sampaio VS, Alexandre MAA, Melo GC, Safe IP, Borba MGS, Netto RLA, Maciel ABS, Neto JRS, Oliveira LB, Figueiredo EFG, Oliveira Dinelly KM, de Almeida Rodrigues MG, Brito M, Mourão MPG, Pivoto João GA, Hajjar LA, Bassat Q, Romero GAS, Naveca FG, Vasconcelos HL, de Araújo Tavares M, Brito-Sousa JD, Costa FTM, Nogueira ML, Baía-da-Silva DC, Xavier MS, Monteiro WM, Lacerda MVG; Metcovid Team. Methylprednisolone as Adjunctive Therapy for Patients Hospitalized With Coronavirus Disease 2019 (COVID-19; Metcovid): A Randomized, Double-blind, Phase IIb, Placebo-controlled Trial. *Clin Infect Dis.* 2021 May 4;72(9):e373-e381.
3. Bonates P, João GAP, Cruz KS, Ferreira MS, Baía-da-Silva DC, **Farias MEL**, Brito-Sousa JD, Santana MF, Oliveira LA, Cortez ACA, Souza JVB, Lacerda MVG. Fatal rhino-orbito-cerebral mucormycosis infection associated with diabetic ketoacidosis post-COVID-19. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2021 Jul 12;54:e03582021.
4. Santana MF, Frank CHM, Almeida TVR, Jeronimo CMP, de Araújo Pinto RA, Martins YF, **de Farias MEL**, Dutra BG, Brito-Sousa JD, Baía-da-Silva DC, Xavier MS, Lacerda MVG, Almeida Val FF, Monteiro GC, Sampaio VS, Monteiro WM, Ferreira LCL. Hemorrhagic and thrombotic manifestations in the central nervous system in COVID-19: A large observational study in the Brazilian Amazon with a complete autopsy series. *PLoS One.* 2021 Sep 10;16(9):e0255950.
5. Barros CMSS, Freire RS, Frota E, Rezende Santos AG, **Farias MEL**, Rodrigues MGA, Silva BM, Prado Jeronimo CM, Netto RLA, Silva Borba MG, Baía-da-Silva D, Brito-Sousa JD, Xavier MS, Araújo-Alexandre MA, Sampaio VS, Melo GC, Arêas GT, Hajjar LA, Monteiro WM, Gomes Naveca F, Costa FTM, Val FFA, Lacerda MVG; Metcovid

team. Short-Course of Methylprednisolone Improves Respiratory Functional Parameters After 120 Days in Hospitalized COVID-19 Patients (Metcovid Trial): A Randomized Clinical Trial. *Front Med (Lausanne)*. 2021 Nov 30;8:758405.

6. **Farias ME**, Santana MF, Ferreira L, Borba M, Silva-Neto J, Brito-Sousa JD, Baía-da-Silva DC, João GP, Val F, Simão M, Souza JV, Naveca F, Melo G, Monteiro W, Lacerda M. COVID-19-Associated Pulmonary Aspergillosis in a Series of Complete Autopsies from the Brazilian Amazon. *Am J Trop Med Hyg*. 2022 Jan 7:tpmd211009.