



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
CAMPUS TOLEDO

CURSO DE MEDICINA



PROGRAMA DE VOLUNTARIADO ACADÊMICO

TRADUÇÃO LIVRE DE ARTIGOS CIENTÍFICOS SOBRE O COVID-19

Este projeto visa realizar a tradução livre de artigos científicos relacionados ao COVID-19, publicados em revistas internacionais de renome, com o objetivo de fornecer material traduzido e facilitar a compreensão e acesso à informação relevante aos profissionais de saúde de diversas áreas e a população em geral. Não há conflitos de interesse.

Título original: Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial

Autores: Gautret *et al.*

Publicado em: International Journal of Antimicrobial Agents. 17 March, 2020 (in press).

DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105949

Artigo original

Hidroxicloroquina e azitromicina como tratamento do COVID-19: resultados de um ensaio clínico aberto não randomizado

Resumo

Contexto

Verificou-se que a cloroquina e a hidroxicloroquina são eficientes no tratamento de SARS-CoV-2, e foram reportadas serem eficientes em pacientes chineses com COV-19. Nós avaliamos o papel da hidroxicloroquina na carga viral respiratória.

Pacientes e Métodos

Pacientes franceses com COVID-19 confirmada foram incluídos em um protocolo de braço único, do começo de março até 16 de março, para receber 600mg de hidroxicloroquina diariamente e as cargas virais em swabs de nasofaringe foram testadas diariamente no ambiente hospitalar. Dependendo da apresentação

clínica, a azitromicina era adicionada ao tratamento. Pacientes não tratados de outros centros e casos que recusaram o protocolo foram incluídos como controles negativos. A presença ou a ausência do vírus no sexto dia pós inclusão foram consideradas os desfechos.

Resultados

Seis pacientes eram assintomáticos, vinte e dois tinham sintomas de infecção de trato respiratório superior e oito tinham sintomas de trato respiratório inferior.

Vinte casos foram tratados neste estudo e mostraram uma redução significativa da carga viral no sexto dia após a inclusão em comparação com os controles, e uma duração da condição de portador muito menor do que a média reportada na literatura em pacientes não tratados. A azitromicina adicionada à hidroxicloroquina foi significativamente mais eficiente para a eliminação viral.

Conclusão

Apesar do tamanho pequeno da amostra, nossa pesquisa mostra que o tratamento com

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

hidroxicloroquina é significativamente associada com redução/desaparecimento da carga viral em pacientes com COVID-19, e seu efeito é reforçado pela azitromicina

Palavras-chave: 2019-nCoV; SARS-CoV-2; COVID-19; hidroxicloroquina; azitromicina; ensaio clínico

1. Introdução

Ao final de dezembro de 2019, um surto por uma emergente doença (COVID-19), por conta de uma nova variedade de coronavírus (chamado de SARS-CoV 2), iniciou-se na província de Wuhan, na China, e se espalhou rapidamente por toda a China e demais países [1,2]. A Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou a epidemia de COVID-19 como pandêmica no dia 12 de março de 2020 [3]. De acordo com um recente estudo chinês, em torno de 80% dos pacientes apresentam uma forma branda da doença e, no geral, os casos de fatalidade compreendem a 2,3%, mas chegam a 8,0% em pacientes com idade entre 70 a 79 anos e 14,8% naqueles com mais de 80 anos [4]. No entanto, há, provavelmente, um importante número de portadores assintomáticos da doença na população e, portanto, a taxa de mortalidade é provavelmente superestimada. A França enfrenta agora uma onda de COVID-19 de mais de 4500 casos, a partir de dados de 14 de março de 2020. Portanto, existe uma urgente necessidade por um tratamento efetivo, com fim de tratar não só pacientes sintomáticos, mas também de diminuir a duração da contaminação pelo vírus, com o intuito de limitar a transmissão dentro da comunidade. Dentre os medicamentos candidatos para o tratamento da COVID-19, o reposicionamento de antigas drogas, para serem usadas como tratamentos antivirais, é uma estratégia interessante por conta do já conhecimento do perfil de segurança, efeitos colaterais, posologia e formas de interação da droga [6,7].

Um artigo recente relatou a existência de um efeito inibidor, promovido pela remdesivir (uma nova droga antiviral) e cloroquina (uma antiga droga antimalárica), no crescimento da SARS-CoV 2 *in vitro*, [8] e uma

prematura tentativa clínica conduzida em pacientes chineses infectados pela COVID-19, mostrou que a cloroquina possuía um efeito significativo, tanto em relação ao desfecho clínico, quanto em termos de eliminação viral, quando comparado aos grupos de controle [9,10]. Especialistas chineses recomendam que pacientes com casos leves, moderados e severos de pneumonia por COVID-19 e sem contraindicações de cloroquina, sejam tratados com 500mg de cloroquina, duas vezes por dia, durante 10 dias [11].

Hidroxicloroquina (um análogo à cloroquina) demonstrou ter atividade Anti-SARS-CoV *in Vitro* [12]. O perfil de segurança da Hidroxicloroquina é melhor do que o da cloroquina (durante uso prolongado), permite doses diárias mais elevadas [13] e possui menos preocupações em relação às interações medicamentosas [14]. Nosso grupo possui uma experiência abrangente de mais de 20 anos em tratar, com sucesso, pacientes com doenças crônicas causadas por bactérias intracelulares (Febre Q causada por *Coxiella burnetti* e doença de Whipple causada por *Tropheryma whipplei*), utilizando como tratamento, por longo prazo, com hidroxicloroquina (600 mg/dia por 12 a 18 meses) [15,16]. Nós, portanto, começamos a conduzir um ensaio clínico, buscando avaliar os efeitos da hidroxicloroquina sobre os pacientes infectados com a SARS-CoV-2, logo após a aprovação do Ministro de Saúde da França. Neste relatório, nós descrevemos nossos resultados iniciais, focando em dados virológicos de pacientes tratados com hidroxicloroquina, comparados a um grupo de controle.

2. População de estudo e métodos

Configuração

Este estudo em andamento é coordenado pelo The Méditerranée Infection University Hospital Institute em Marselha. Os pacientes que foram submetidos ao tratamento com hidroxicloroquina foram recrutados e acompanhados no centro de Marselha. Os pacientes-controle sem o tratamento com hidroxicloroquina foram recrutados em Marselha, Nice, Avignon e Brinançon, todos localizados no Sul da França.

Pacientes

Pacientes hospitalizados com COVID-19 foram incluídos neste estudo caso preenchessem dois critérios primários: 1) ter mais de 12 anos de idade; 2) ter o SARS-CoV-2 identificado por PCR em amostras de material da nasofaringe, independente do quadro clínico.

Pacientes foram excluídos do estudo caso possuíssem alergia previamente conhecida à hidroxicloroquina ou cloroquina ou se tivessem alguma outra contraindicação para o uso dessas drogas, como retinopatia, deficiência de G6PD e presença de intervalo QT prolongado. Lactantes e grávidas também foram excluídas do estudo, baseando-se em sua declaração e testes de gravidez quando requisitados.

Consentimento informado

Antes de serem incluídos, os pacientes que preenchiam os critérios primários tiveram que consentir em participar do estudo. Um termo de consentimento por escrito foi obtido de pacientes adultos ([≥]18 anos) ou de pais ou guardiões legais de menores de idade (<18 anos). Um documento que esclarece todos os riscos e benefícios associados à participação no estudo foi entregue a cada paciente. Os pacientes receberam informações sobre seu estado clínico durante o atendimento independente da participação no estudo. A respeito da identificação dos pacientes, foi atribuído um número de forma sequencial aos pacientes incluídos, de acordo com o número de pacientes alocados em cada centro de estudo. O estudo foi conduzido de acordo com o Conselho Internacional para Harmonização de Requisitos Técnicos para Medicamentos de Uso Humano (ICH) e suas orientações para boa prática médica, com a Declaração de Helsinki e com procedimentos operacionais padrão.

O protocolo, apêndices e outros documentos relevantes foram enviados à Agência Nacional Francesa de Segurança de Medicamentos (ANSM) (2020-000890-25) e ao Comitê de Ética Francês (CPP Ile de France) (20.02.28.99113) para revisão e aprovação nos dias 5 e 6 de março de 2020, respectivamente. Este ensaio está

registrado no Registro de Ensaios Clínicos da União Europeia, número 2020-000890-25.

Procedimento

No dia-0, os pacientes foram vistos para inscrição, coleta de dados iniciais e tratamento, e novamente para um acompanhamento diário durante 14 dias. Todos os dias, os pacientes receberam um exame clínico padrão e, quando possível, uma amostra de material da nasofaringe era coletada. Todos os dados clínicos foram coletados utilizando questionários padrão. Todos os pacientes no centro de Marselha foram submetidos ao uso de 200 mg de sulfato de hidroxicloroquina oral, três vezes ao dia durante 10 dias (nesta fase preliminar, não inscrevemos crianças no grupo de tratamento, visto que dados mostram que crianças desenvolvem sintomas brandos da COVID-19 [4]). Os pacientes que rejeitaram o tratamento ou que apresentavam um critério de exclusão serviram como controles no centro de Marselha. Pacientes em outros centros não foram tratados com hidroxicloroquina e também serviram como controles. Tratamento sintomático e antibióticos como medida de prevenção contra infecções bacterianas superpostas foi fornecido por investigadores baseado em julgamento clínico. A hidroxicloroquina foi fornecida pela *National Pharmacy of France* por demanda nominal.

Classificação clínica

Os pacientes foram agrupados em três categorias: assintomáticos; pacientes com infecções de trato respiratório superior (ITRS), caso apresentassem rinite, faringite ou febre baixa isolada e mialgia; e pacientes com infecções do trato respiratório inferior (ITRI), caso apresentassem sintomas de pneumonia ou bronquite.

Ensaio de PCR

O RNA do SARS-CoV-2 foi acessado por PCR por transcrição reversa em tempo real (RT-PCR).

Dosagem de hidroxicloroquina

A hidroxicloroquina nativa foi dosada de amostras sanguíneas de pacientes por UHPLC-UV utilizando um

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

protocolo já descrito. O pico do cromatógrafo aos 1,05 minutos de retenção corresponde ao metabólito da hidroxiclороquina. A concentração sérica desse metabólito é deduzida pela absorção UV, assim como a concentração da hidroxiclороquina. Considerando ambas as concentrações, obtém-se uma estimativa da concentração sérica inicial da hidroxiclороquina.

Cultura

Para todos os pacientes, 500 µL de líquido coletado do *swab* de nasofaringe foi passado por um filtro de centrífuga com poros de 0,22 µm (Merck milipore, Darmstadt, Germany), e então foram inoculados em poços de microplacas de 96 poços, dentre os quais 4 continham células Vero E-6 (ACC CRL-1586) em cultura de Minimum Essential Medium (MEM) com 4% de soro bovino fetal e 1% de glutamina. Depois da centrifugação a 4,000 g, as microplacas foram incubadas a 37°C. As placas foram observadas diariamente para controle de efeitos citopáticos. A detecção pressuposta de vírus no sobrenadante foi feita utilizando SU5000 SEM (Hitachi) e então confirmada pelo RT-PCR específico.

Resultado

O desfecho primário foi a eliminação viral no sexto dia após o início do estudo. Desfechos secundários foram a taxa de eliminação (clearance) viral durante o período de estudo, o acompanhamento clínico (temperatura, frequência respiratória, tempo de estadia no hospital e mortalidade) e a ocorrência de efeitos colaterais.

Estatísticas

Assumindo uma eficácia de 50% da hidroxiclороquina em reduzir a carga viral no sétimo dia, uma potência de 85%, uma taxa de 5% de erro tipo I e 10% de perda de seguimento, calculamos que um total de 48 pacientes portadores da COVID-19 (24 casos no grupo da hidroxiclороquina e 24 no grupo controle) seriam necessários para a análise (Fleiss com CC). As diferenças estatísticas foram avaliadas através do qui-quadrado de Pearson ou do teste exato de Fischer como variáveis categóricas. Dados quantitativos foram comparados

utilizando o teste t de Student. As análises foram executadas na versão 14.2 do Stata.

3. Resultados (resultados detalhados estão disponíveis na tabela suplementar 1).

Apresentação clínica e demográfica

Nós registramos 36 dos 42 pacientes encaixados nos critérios de inclusão desse estudo e que possuíam, ao menos, seis dias de acompanhamento até o momento da presente análise. Um total de 26 pacientes receberam hidroxiclороquina e 16 foram pacientes de grupo controle. Seis pacientes tratados com hidroxiclороquina perderam acompanhamento durante a pesquisa por conta de uma prematura suspensão do tratamento. As razões para isso são as seguintes: três pacientes foram transferidos para a unidade de terapia intensiva (UTI), incluindo um deles transferido no dia dois, pós-inclusão no estudo, o qual possuía PCR-positivo no dia 1; um transferido no dia 3, pós-inclusão, que possuía PCR-positivo nos dias 1 e 2 e outro transferido no dia 4, pós-inclusão, que possuía PCR-positivo nos dias 1 e 3; um paciente faleceu no dia 3, pós-inclusão, e possuía PCR-negativo no dia 2; um paciente decidiu deixar o hospital no dia 3, pós-inclusão, e possuía PCR-negativo nos dias 1 e 2; finalmente, um paciente parou o tratamento no dia 3, pós-inclusão, por causa de náuseas e foi PCR-positivo nos dias 1, 2 e 3. Os resultados apresentados aqui são, portanto, dos 36 pacientes (20 tratados com hidroxiclороquina e 16 pacientes de controle). Nenhum dos pacientes de controle foi perdido durante o acompanhamento. Dados demográficos básicos e estado clínico são apresentados na Tabela 1. No geral, 15 pacientes eram homens (41,7%) com a média de idade de 45.1 anos. A proporção de pacientes assintomáticos foi 16,7%, de pacientes com sintomas de infecção do trato respiratório superior foi 61,1% e de pacientes com sintomas de infecção do trato respiratório inferior foi de 22,2%. Todos os pacientes com sintomas de infecção do trato respiratório inferior, tiveram pneumonia confirmada por Tomografia Computadorizada.

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

Pacientes tratados com hidroxicloroquina eram mais velhos que os pacientes pertencentes ao grupo controle (51.2 anos contra 37.3 anos). Nenhuma diferença significativa foi observada, entre pacientes tratados com hidroxicloroquina e pacientes controle em relação ao gênero, estado clínico e duração dos sintomas antes da inclusão (Tabela 1). Dentre os pacientes tratados por hidroxicloroquina, seis pacientes receberam azitromicina (500 mg no dia 1, seguido por 250 mg por dia, durante os próximos 4 dias) com intuito de prevenir infecções bacterianas concomitantes sob um controle diário por eletrocardiograma. Acompanhamento clínico e ocorrência de efeitos secundários serão descritos em um artigo futuro ao final do ensaio.

Dosagem de Hidroxicloroquina

A média de concentração do soro de Hidroxicloroquina foi 0,46 µg/ml±0,2 (N=20).

Efeito da hidroxicloroquina sobre a carga viral

A proporção de pacientes que tiveram resultado PCR-negativo em amostras nasofaríngeas variou significativamente entre os pacientes tratados e controle, durante os dias 3, 4, 5 e 6 pós-inclusão (tabela 2). No dia 6, pós-inclusão, 70% dos pacientes tratados com hidroxicloroquina foram, virologicamente, curados em comparação com 12,5% do grupo de controle ($p=0,001$).

Quando comparados os efeitos do tratamento unicamente por hidroxicloroquina com os efeitos do tratamento por combinação entre hidroxicloroquina e azitromicina, a proporção de pacientes PCR-negativos para amostras nasofaríngeas, foi significativamente diferente entre os dois grupos, durante os dias 3, 4, 5 e 6 pós-inclusão (Tabela 3). No dia 6, pós-inclusão, 100% dos pacientes tratados com a combinação de hidroxicloroquina e azitromicina foram curados virologicamente, comparado com 51,7% nos pacientes tratados, unicamente, por hidroxicloroquina e 12,5% no grupo de controle ($p<0,001$). Esses resultados estão resumidos nas Figuras 1 e 2. O efeito das drogas foi significativamente maior em pacientes com infecção do

trato respiratório superior e infecção do trato respiratório inferior, quando comparado aos pacientes assintomáticos com $p<0,05$ (dados não mostrados).

É de se destacar o caso de um paciente o qual ainda era PCR-positivo no sexto dia pós-inclusão sendo tratado apenas com hidroxicloroquina recebeu azitromicina, juntamente com hidroxicloroquina no dia 8 pós-inclusão e curou sua infecção no dia 9 pós-infecção. Em contrapartida, um dos pacientes sobre tratamento com hidroxicloroquina combinada com azitromicina, que foi PCR-negativo no dia 6 pós-inclusão, foi PCR-positivo, em baixo grau, no dia 8 pós-inclusão.

Culturas

Nós isolamos SARS-CoV-2 em 19 de 25 amostras clínicas de pacientes.

4. Discussão

Por razões éticas e porque nossos primeiros resultados foram tão significantes e evidentes, nós decidimos compartilhar nossos achados com a comunidade médica, visto a necessidade urgente de uma droga efetiva contra o SARS-CoV-2 no atual contexto de pandemia.

Mostramos aqui que a hidroxicloroquina é eficiente em eliminar a carga viral do SARS-Cov-2 na nasofaringe de pacientes com COVID-19 em apenas 3 a 6 dias, na maioria dos pacientes. Uma diferença significativa foi observada entre pacientes tratados com hidroxicloroquina e controles, começando no terceiro dia após inclusão. Esses resultados são de grande importância porque um artigo recente mostrou que a média de duração da excreção viral, em pacientes sofrendo com COVID-19 na China, foi 20 dias (sendo a duração mais longa de até 37 dias).

Muito recentemente, uma equipe chinesa publicou resultados de um estudo demonstrando que cloroquina e hidroxicloroquina inibem SARS-CoV-2 in vitro, sendo que a hidroxicloroquina ($EC_{50}=0,72\% \mu M$) se mostrou mais potente que a cloroquina ($EC_{50}=5,47\% \mu M$). Esses

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

resultados in vitro corroboram com os nossos resultados clínicos. Os valores-alvo indicados nesse artigo foram alcançados em nossos experimentos. O perfil de toxicidade dose-dependente mais seguro em humanos, comparado com o da cloroquina, permite o uso de doses clínicas de hidroxiquina que superam o EC₅₀ observado in vitro.

Nossos resultados preliminares também sugerem um efeito sinérgico na combinação de hidroxiquina e azitromicina. A azitromicina tem mostrado ser ativa in vitro contra os vírus da Zika e Ebola, e na prevenção de infecções graves de trato respiratório quando administrada com pacientes sofrendo com infecção viral. Esse achado deve ser explorado futuramente para saber se a combinação é mais efetiva especialmente em casos mais severos. O potencial risco de prolongamento do intervalo QT induzido pela associação desses dois medicamentos não foi bem estabelecido ainda, mas deve ser considerado. Como para cada tratamento, o custo benefício do risco deve ser avaliado individualmente. Estudos adicionais sobre essa combinação são necessários, visto que pode agir tanto como terapia antiviral contra o SARS-CoV-2 e como prevenção de infecções bacterianas concomitantes.

A causa da falha do tratamento de hidroxiquina deve ser investigado ao testar as cepas isoladas de SARS-CoV-2 que não foram responsivas, analisando o seu genoma e investigando fatores do hospedeiro que podem estar associados com o metabolismo da hidroxiquina. A ocorrência de falha da

hidroxiquina em dois pacientes (mãe e filho) é mais sugestiva do último mecanismo de resistência.

Tais resultados são promissores e abrem a possibilidade de definir estratégias internacionais para aqueles que tomam decisões para combater esta infecção viral emergente em tempo-real, mesmo que outras estratégias e pesquisas - incluindo o desenvolvimento vacinas - possam ser efetivas, mas somente no futuro. Portanto, nós recomendamos que os pacientes com COVID-19 sejam tratados com hidroxiquina e azitromicina para curar a infecção e limitar a transmissão do vírus para outras pessoas, a fim de limitar a propagação do COVID-19 no mundo. Trabalhos adicionais também são necessários para determinar se esses compostos poderiam ser úteis como quimio-profilaxia para prevenir a transmissão do vírus, especialmente em trabalhadores da área da saúde. Nosso estudo tem algumas limitações, incluindo: uma amostra de tamanho pequeno, um acompanhamento até o desfecho de longo prazo limitado e a saída de seis pacientes do estudo. Contudo, no atual contexto, nós acreditamos que nossos resultados devem ser compartilhados com a comunidade científica.

Agradecimentos

Nós agradecemos Céline Boschi, Stéphanie Branger, Véronique Filosa, Géraldine Gonfrier, Nadège Palmero, Magali Richez e todas as equipes clínicas, técnicas e paramédicas das unidades hospitalares e laboratórios pelo seu apoio neste contexto difícil.

Tabela 1. Características da população em estudo

	Idade (anos)			Gênero masculino		Status Clínico				Tempo entre início dos sintomas e inclusão (dias)		
	Média ± DV	t	Valor de p	n (%)	Valor de p	Assintomático	IVAS	IVAI	Valor de p	Média ± DV	t	Valor de p
Pacientes tratados com Hidroxiquina (N=20)	51,2 ± 18,7	-1,95	0,06	9 (45,0)	0,65	2 (10,0)	12 (60,0)	6 (30,0)	0,30	4,1 ± 2,6	-0,15	0,88

Acesse: <http://www.toledo.ufpr.br/portal/artigos-cientificos-covid-19/>

Pacientes controle (N=16)	37,3 ± 24,0			6 (37,5)		4 (25,0)	10 (62,5)	2 (12,5)		3,9 ± 2,8	
Total (36)	45,1 ± 22,0			15 (41,7)		6 (16,7)	22 (61,1)	8 (22,2)		4,0 ± 2,6	

IVAS: infecção das vias respiratórias superiores, IVAI: infecção das vias respiratórias inferiores

*As porcentagens podem não totalizar 100 devido ao arredondamento.

*A variação normal de frequência respiratória (em respirações por minuto) foram as seguintes: 40 a 60 para recém-nascidos, 30 a 40 para crianças com menos de 1 ano de idade, 25 a 30 para aquelas com 4 a 7 anos, 18 a 20 para aquelas com 8 a 14 anos de idade, e 12 a 20 para aqueles com mais de 14 anos de idade. Taquipneia refere-se a uma frequência respiratória maior que o limite superior da faixa normal de acordo com a idade.

*As variações normais da frequência de pulso (em batimentos por minuto) foram as seguintes: 120 a 140 para recém-nascidos, 110 a 130 para crianças com menos de 1 ano de idade, 100 a 120 para aqueles com 1 a 3 anos, 100 a 120 para aqueles com 1 a 3 anos de idade, 80 a 100 para aqueles com 4 a 7 anos de idade, 70 a 90 para aqueles com 8 a 14 anos de idade, e 60 a 70 para aqueles maiores de 14 anos de idade. Taquicardia refere-se a uma frequência de pulso maior que o limite superior da faixa normal de acordo com a idade.

Tabela 2. Proporção de pacientes com cura virológica (PCR de nasofaringe negativo) por dia, em pacientes com COVID-19 tratados com hidroxicloroquina e em pacientes com COVID-19 controles

	Dia 3 após inclusão			Dia 4 após inclusão			Dia 5 após inclusão			Dia 6 após inclusão		
	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p
Pacientes tratados com Hidroxicloroquina (N=20)	10/20	50,0	5	12/20	60,0	0,04	13/20	65,0	0,006	14/20	70,0	0,001
Pacientes controle (N=16)	1/16	6,3		4/16	25,0		3/16	18,8		2/16	12,5	

*Pacientes controle de outros centros, que não Marseille, não foram submetidos a retirada de amostras diária, mas foram retirados a cada dois dias na maioria dos casos, foram considerados positivos para PCR quando realmente positivos no(s) dia(s) anterior(es) e no(s) dia(s) após o(s) dia(s) com dados ausentes.

Tabela 3. Proporção de pacientes com cura virológica ((PCR de nasofaringe negativo) por dia, em pacientes com COVID-19 tratados com somente com hidroxicloroquina, em pacientes com COVID-19 tratados com a combinação de hidroxicloroquina e azitromicina, e em pacientes com COVID-19 controles.

	Dia 3 após inclusão			Dia 4 após inclusão			Dia 5 após inclusão			Dia 6 após inclusão		
	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p	Número de pacientes negativos/ Número total de pacientes	%	Valor de p
Pacientes controle	1/16	6,3	0.002	4/16	25,0	0.05	3/16	18,8	0.002	2/16	12,5	<0.001
Pacientes tratados somente com Hidroxicloroquina	5/14	35,7		7/14	50,0		7/14	50,0		8/14	57,1	
Pacientes tratados com Hidroxicloroquina e Azitromicina em combinação	5/6	83,3		5/6	83,3		6/6	100		6/6	100	

Tabela Suplementar 1. URTI: infecção em trato respiratório superior, LRTI: infecção em trato respiratório inferior, POS: PCR positivo, NEG: PCR negativo (Valor de CT≥35), ND: PCR não feito.

Paciente	Idade (anos)	Sexo	Status Clínico	Tempo entre início dos sintomas e inclusão (dias)	Tratamento com Hidroxicloroquina	Concentração em µg/ml de Hidroxicloroquina no plasma (dia da dosagem)	Tratamento com Azitomicina	D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6
1	10	M	Assintomático	-	Não	-	Não	31	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
2	12	F	Assintomático	-	Não	-	Não	26	ND	33	34	NEG	34	NEG
3	14	F	Assintomático	-	Não	-	Não	26	31	23	22	27	NEG	26
4	10	M	Assintomático	-	Não	-	Não	24	NEG	33	33	NEG	NEG	32
5	20	M	URTI	4	Não	-	Não	24	24	24	27	NEG	31	29
6	65	F	URTI	2	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	POS	ND	POS
7	46	M	URTI	Desconhecido	Não	-	Não	28	ND	ND	ND	26	ND	30
8	69	M	LRTI	2	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	POS	POS	POS
9	62	F	LRTI	10	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	POS	ND	POS
10	66	F	URTI	0	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	ND	ND	POS
11	75	F	URTI	3	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	POS	ND	ND
12	23	F	URTI	5	Não	-	Não	ND	ND	POS	ND	POS	ND	ND
13	45	F	URTI	Desconhecido	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	POS	ND	POS
14	16	M	URTI	2	Não	-	Não	POS	ND	POS	ND	ND	POS	ND
15	42	F	URTI	5	Não	-	Não	ND	ND	POS	ND	POS	ND	ND
16	23	F	URTI	6	Não	-	Não	POS	ND	ND	ND	ND	POS	ND
17	44	F	URTI	6	Sim	0,519 (D6)	Não	30	ND	29	26	32	26	31
18	54	M	Assintomático	-	Sim	0,462 (D6)	Não	29	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
19	25	M	URTI	3	Sim	0,419 (D6)	Não	23	25	28	25	NEG	NEG	NEG
20	59	F	Assintomático	-	Sim	0,288 (D4)	Não	30	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
21	49	F	URTI	1	Sim	0,621 (D6)	Não	34	27	19	16	34	24	22
22	24	F	URTI	10	Sim	0,723 (D6)	Não	28	NEG	32	34	NEG	NEG	NEG
23	81	F	LRTI	2	Sim	0,591 (D6)	Não	22	21	30	NEG	32	28	NEG
24	85	F	LRTI	1	Sim	0,619 (D6)	Não	17	21	23	21	26	24	24
25	40	M	URTI	3	Sim	0,418 (D6)	Não	22	ND	28	21	15	20	17
26	53	M	URTI	5	Sim	0,515 (D6)	Não	27	28	32	31	NEG	NEG	NEG
27	63	F	URTI	8	Sim	0,319 (D4)	Não	34	NEG	30	NEG	NEG	NEG	NEG
28	42	F	URTI	1	Sim	0,453 (D6)	Não	19	16	17	17	19	20	31
29	87	F	URTI	5	Sim	0,557 (D6)	Não	25	30	NEG	NEG	NEG	ND	ND
30	33	M	URTI	2	Sim	0,194 (D2)	Não	15	23	26	26	NF	32	32
31	53	F	LRTI	7	Sim	1,076 (D6)	Sim	28	31	34	NEG	34	NEG	NEG
32	48	M	URTI	2	Sim	0,57 (D6)	Sim	23	29	29	NEG	NEG	NEG	NEG
33	50	F	LRTI	5	Sim	0,827 (D6)	Sim	30	27	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG
34	20	M	URTI	2	Sim	0,381 (D6)	Sim	27	31	29	NEG	NEG	NEG	NEG
35	54	M	LRTI	6	Sim	0,366 (D4)	Sim	24	ND	ND	29	NEG	NEG	NEG
36	60	M	LRTI	4	Sim	0,319 (D4)	Sim	29	31	31	NEG	NEG	NEG	NEG

Figura 1. Porcentagem de pacientes com PCR de amostra de nasofaringe positivo da inclusão até o sexto dia após inclusão em pacientes com COVID-19 tratados com hidroxicloroquina e pacientes com COVID-19 controles.

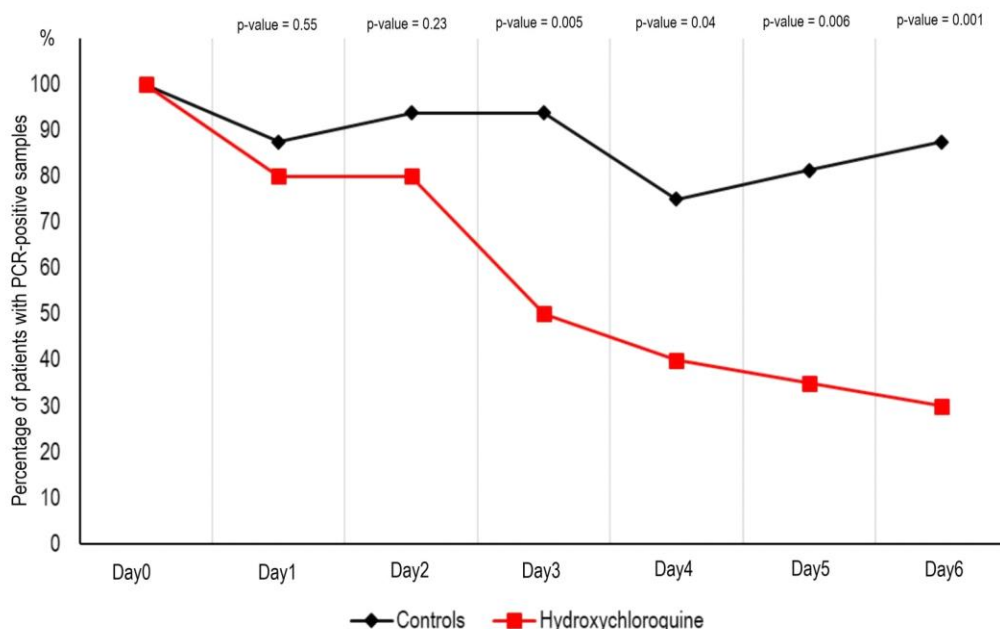
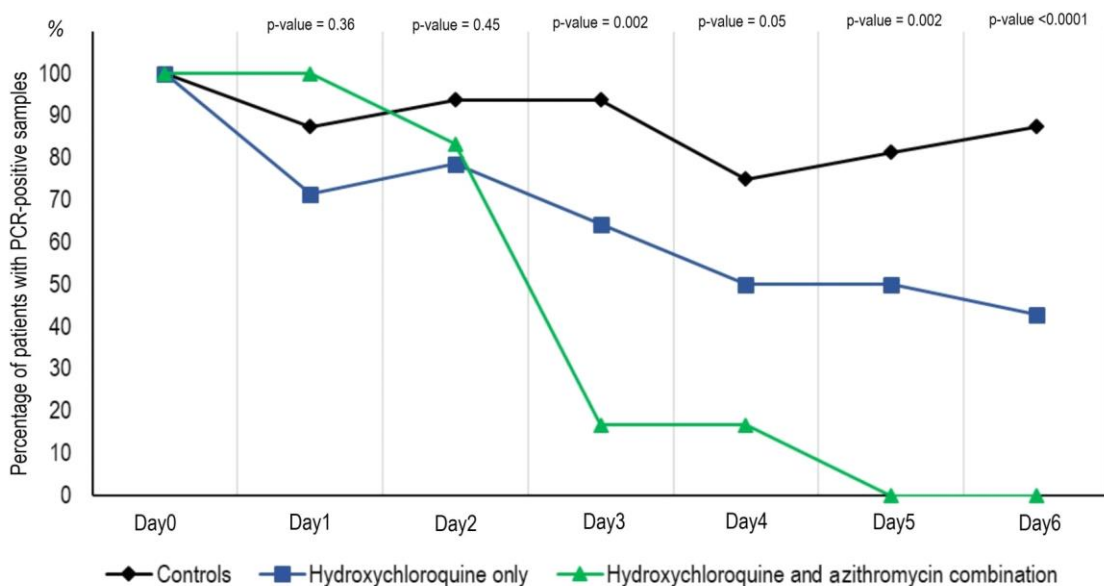


Figura 2. Porcentagem de pacientes com PCR de amostra de nasofaringe positivo da inclusão até o sexto dia após inclusão em pacientes com COVID-19 tratados somente com hidroxicloroquina, pacientes com COVID-19 tratados com a combinação de hidroxicloroquina e azitromicina, e pacientes com COVID-19 controles.



Referências

[1] Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and 15

the challenges. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Feb 17:105924. doi:

10.1016/j.ijantimicag.2020.105924. [Epub ahead of print]

[2] Wang LS, Wang YR, Ye DW, Liu QQ. A review of the 2019 Novel Coronavirus (COVID-19) based on current evidence". *Int J Antimicrob Agents.* 2020 [Epub ahead of print]

[3] WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020. [<https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>]

[4] Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA.* 2020 Feb 24. doi:

10.1001/jama.2020.2648. [Epub ahead of print]

[5] Santé Publique France. Infection au nouveau Coronavirus (SARS-CoV-2), COVID-19, France et Monde [<https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/maladies-et-infections-respiratoires/infection-a-coronavirus/articles/infection-au-nouveau-coronavirus-sars-cov-2-covid-19-france-et-monde>]

[6] Colson P, Rolain JM, Raoult D. Chloroquine for the 2019 novel coronavirus SARS-CoV 2. *Int J Antimicrob Agents.* 2020 Feb 15:105923. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2020.105923. [Epub ahead of print]

[7] Colson P, Rolain JM, Lagier JC, Brouqui P, Raoult D. Chloroquine and

hydroxychloroquine as available weapons to fight COVID-19. *Int J Antimicrob Agents*. 2020 [Epub ahead of print]
16

[8] Wang M, Cao R, Zhang L, Yang X, Liu J, Xu M, et al. Remdesivir and chloroquine effectively inhibit the recently emerged novel coronavirus (2019-nCoV) in vitro. *Cell Res* 2020;10-0282.

[9] Gao J, Tian Z, Yang X. Breakthrough: Chloroquine phosphate has shown apparent efficacy in treatment of COVID-19 associated pneumonia in clinical studies. *Biosci Trends* 2020 Feb 19. doi: 10.5582/bst.2020.01047. [Epub ahead of print]

[10] Chinese Clinical Trial Registry. <http://www.chictr.org.cn/searchproj.aspx?title=%E6%B0%AF%E5%96%B9&officialname=&subjectid=&secondaryid=&applier=&study leader=ðicalcommitteesanction=&sponsor=&study ailment=&studyailmentcode=&studytype=0&studystage=0&studydesign=0&minstudyexecutetime=&maxstudyexecutetime=&recruitmentstatus=0&gender=0&agree to sign=&secsponsor=®no=®status=0&country=&province=&city=&institution=&institutionlevel=&measure=&intercode=&sourceofspends=&createyear=0&isuploaded=&whetherpublic=&btngo=btn&verifycode=&page=1>

[11] Multicenter collaboration group of Department of Science and Technology of Guangdong Province and Health Commission of Guangdong Province for chloroquine in the treatment of novel coronavirus pneumonia. Expert consensus on chloroquine phosphate for the treatment of novel coronavirus pneumonia. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020 Mar 12;43(3):185-188. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.009.

17

[12] Biot C, Daher W, Chavain N, Fandeur T, Khalife J, Dive D, et al. Design and synthesis of hydroxyferroquine derivatives with antimalarial and antiviral activities. *J Med Chem* 2006;49:2845-2849.

[13] Marmor MF, Kellner U, Lai TY, Melles RB, Mieler WF; American Academy of Ophthalmology. Recommendations on Screening for Chloroquine and Hydroxychloroquine Retinopathy (2016 Revision). *Ophthalmology*. 2016 Jun;123(6):1386-94. doi: 10.1016/j.ophtha.2016.01.058. Epub 2016 Mar 16.

[14] Yao X, Ye F, Zhang M, Cui C, Huang B, Niu P, et al. In Vitro Antiviral Activity and Projection of Optimized Dosing Design of Hydroxychloroquine for the Treatment of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020 Mar 9. pii: ciaa237. doi: 10.1093/cid/ciaa237. [Epub ahead of print]

[15] Raoult D, Houpikian P, Tissot Dupont H, Riss JM, Arditi-Djjane J, Brouqui P. Treatment of Q fever endocarditis: comparison of 2 regimens containing doxycycline and ofloxacin or hydroxychloroquine. *Arch Intern Med*. 1999 Jan 25;159(2):167-73.

[16] Lagier JC, Raoult D. Whipple's disease and *Tropheryma whipplei* infections: when to suspect them and how to diagnose and treat them. *Curr Opin Infect Dis*. 2018 Dec;31(6):463-470. doi: 10.1097/QCO.0000000000000489. [x] Expert consensus on chloroquine phosphate for the treatment of novel coronavirus pneumonia. *Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi*. 2020 Mar 12;43(3):185-188. doi: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2020.03.009.

[17] Amrane S, Tissot-Dupont H, Doudier B, Eldin C, Hocquart M, Mailhe M et al. Rapid viral diagnosis and ambulatory management of suspected COVID-19 cases presenting at the infectious diseases referral hospital in Marseille, France, - January 31st to March 1st, 2020: A respiratory virus snapshot. *Travel Med Infect Dis*. 2020 [Epub ahead of print].

18

[18] Armstrong N, Richez M, Raoult D, Chabriere E. Simultaneous UHPLC-UV analysis of hydroxychloroquine, minocycline and doxycycline from serum samples for the therapeutic drug monitoring of Q fever and Whipple's disease. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 2017; 1060, 166-172.

[19] Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2020 Mar 11. pii: S0140-6736(20)30566-3. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3. [Epub ahead of print]

[20] Retallack H, Di Lullo E, Arias C, Knopp KA, Laurie MT, Sandoval-Espinosa C, et al. Zika virus cell tropism in the developing human brain and inhibition by azithromycin. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016 Dec 13;113(50):14408-14413. Epub 2016 Nov 29.

[21] Madrid PB, Panchal RG, Warren TK, Shurtleff AC, Endsley AN, Green CE, Kolokoltsov A, et al. Evaluation of Ebola Virus Inhibitors for Drug Repurposing. *ACS Infect Dis.* 2015 Jul 10;1(7):317-26. doi: 10.1021/acsinfectdis.5b00030. Epub 2015 May 11.

[22] Bosseboeuf E, Aubry M, Nhan T, de Pina, JJ, Rolain JM, Raoult D, et al. Azithromycin inhibits the replication of Zika virus. *J Antivirals Antiretrovirals.* 2018 10(1):6-11. doi: 10.4172/1948-5964.1000173.

[23] Bacharier LB, Guilbert TW, Mauger DT, Boehmer S, Beigelman A, Fitzpatrick AM, et al. Early administration of azithromycin and prevention of severe lower respiratory tract illnesses in preschool children with a history of such illnesses: A randomized clinical trial. *JAMA.* 2015 Nov 17;314(19):2034-2044. doi: 10.1001/jama.2015.13896.

Traduzido por¹: Natalie Toki Komori, Victoria Castello Branco I. de Mattos e Thiago de Carvalho lochama

Revisado por¹: Bianca Luiza Melo de Assis, Bianca de Carvalho Rojo e Isadora Maria Pilati Campos.

Supervisão²: Rafael Lirio Bortoncello

1. Acadêmicos de Medicina da Universidade Federal do Paraná (UFPR), campus Toledo.
2. Professor do curso de Medicina da UFPR, campus Toledo.