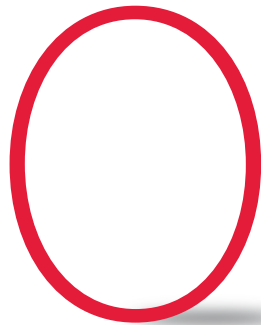




BIKTARVY▼
bictegravir 50mg/emtricitabina 200mg/
tenofovir alafenamida 25mg comprimidos



CASOS

DE EMERGÊNCIA DE RESISTÊNCIA COM BIKTARVY▼

INCLUINDO RESISTÊNCIAS AOS INSTI E INTR

em ensaios clínicos em doentes com VIH-1 *naïve* e com supressão virológica¹⁻⁴



Fala por si.

CONFIANÇA na EFICÁCIA de BIKTARVY▼^{1,2}

BIKTARVY▼ é indicado para o tratamento de adultos infetados com o vírus da imunodeficiência humana do tipo 1 (VIH-1) sem evidência atual ou passada de resistência viral à classe dos inibidores da integrase, à emtricitabina ou ao tenofovir.

A eficácia e a segurança de BIKTARVY▼ foi avaliada em 4 estudos de Fase 3, aleatorizados: 2 em dupla ocultação, em doentes adultos *naïve*, dados às 144 semanas (Estudo 1489 [BIKTARVY▼ vs ABC/3TC/DTG, n=629] e o estudo 1490 [BIKTARVY▼ vs DTG + FTC/TAF, n=645]) e 2 estudos em doentes adultos virologicamente suprimidos, dados às 48 semanas (Estudo 1844 [em dupla ocultação, doentes em tratamento prévio com DTG + ABC/3TC ou ABC/3TC/DTG que mudaram para BIKTARVY▼, n=563] e o estudo 1878 [aberto, doentes em tratamento prévio com ABC/3TC ou FTC/TDF mais atazanavir ou darunavir (potenciado com cobicistate ou ritonavir) que mudaram para BIKTARVY▼, n=577]). O *endpoint* primário dos estudos 1489 e 1490 foi ARN VIH-1 < 50 cópias/ml às 48 semanas e o *endpoint* primário dos estudos 1844 e 1878 foi ARN VIH-1 ≥ 50 cópias/ml às 48 semanas.^{3,4} Eficácia definida como carga vírica <50 cópias/ml.

INSTI - Inibidores da Integrase; **INTR** - Inibidores nucleos(t)ídeos da transcriptase reversa.

Referências: 1. Workowski et al. Four-Year Outcomes of B/TAF in Treatment-Naïve Adults, Presented at Virtual CROI 2021, March 6–10, 2021; 2. RCM BIKTARVY▼ (BIC/FTC/TAF) maio 2021. Disponível em www.ema.europa.eu; 3. Daar ES, et al. Lancet HIV 2018, 5 : e347-e356; 4. Molina JM, et al. Lancet HIV. 2018 ; 5 : e357-e365.

INFORMAÇÕES ESSENCIAIS COMPATÍVEIS COM O RESUMO DAS CARACTERÍSTICAS DO MEDICAMENTO

▼ Este medicamento está sujeito a monitorização adicional. Isto irá permitir a rápida identificação de nova informação de segurança. Pede-se aos profissionais de saúde que notifiquem quaisquer suspeitas de reações adversas. Para saber como notificar reações adversas, ver RCM completo. **NOME DO MEDICAMENTO E FORMA FARMACÉUTICA:** Biktary 50 mg/200 mg/25 mg comprimidos revestidos por película. **COMPOSIÇÃO QUALITATIVA E QUANTITATIVA:** Cada comprimido revestido por película contém bictegravir sódico equivalente a 50 mg de bictegravir, 200 mg de emtricitabina (FTC) e tenofovir alafenamida fumarato (TAF) equivalente a 25 mg de tenofovir alafenamida. Para informação sobre excipientes, consultar o RCM completo. **INDICAÇÕES TERAPÉUTICAS:** tratamento de adultos infetados com o VIH-1 sem evidência atual ou passada de resistência viral à classe dos inibidores da integrase, à emtricitabina ou ao tenofovir. **POSOLÓGIA E MODO DE ADMINISTRAÇÃO:** Um comprimido tomado uma vez por dia, por via oral, com ou sem alimentos. Os comprimidos não devem ser mastigados, esmagados ou divididos. Não é necessário um ajuste posológico de Biktary em doentes idosos, em doentes com uma depuração da creatinina (ClCr) estimada ≥ 30 ml/min ou em doentes com compromisso hepático ligeiro ou moderado. Não é necessário um ajuste posológico em doentes adultos com doença renal terminal (ClCr estimada < 15 ml/minuto) sujeitos a hemodálise crónica. No entanto, de uma forma geral Biktary deve ser evitado e apenas utilizado nestes doentes, caso se considere que os potenciais benefícios superam os potenciais riscos. Deve-se evitar iniciar-se Biktary em doentes com uma ClCr estimada ≥ 15 ml/min e < 30 ml/min, ou < 15 ml/min que não estejam sujeitos a hemodálise crónica. A utilização de Biktary não é recomendada em doentes com compromisso hepático grave. A segurança e eficácia de Biktary em crianças com menos de 18 anos de idade não foram ainda estabelecidas. **CONTRAINDICAÇÕES:** Hipersensibilidade às substâncias ativas ou a qualquer um dos excipientes. Coadministração com rifampicina e hipericão. **ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES ESPECIAIS DE UTILIZAÇÃO:** O risco de transmissão sexual não pode ser excluído. Existem dados limitados sobre a segurança e eficácia de Biktary em doentes com infeção mitocondrial em lactentes VIH negativos, expostos in utero e/ou após o nascimento a análogos dos nucleosídeos. Qualquer sintoma de inflamação deve ser avaliado e, quando necessário, instituído o tratamento. Foi notificada a ocorrência de doenças autoimunes (como a doença de Graves e a hepatite autoimune). Os doentes em tratamento com Biktary podem continuar a desenvolver infeções oportunistas e outras complicações da infeção pelo VIH. Foram notificados casos de osteonecrose, particularmente em doentes com doença por VIH avançada e/ou exposição prolongada a TA combinada. Não se pode excluir um risco potencial de nefrotoxicidade com Biktary. Recomenda-se avaliação da função renal em todos os doentes antes ou quando do início do tratamento, bem como a sua monitorização durante o tratamento, conforme clinicamente adequado. Doentes que desenvolvam uma diminuição clinicamente significativa da função renal ou evidências de tubulopatia renal proximal, deve considerar-se a descontinuação de Biktary. As implicações do aumento da exposição à emtricitabina em doentes adultos com doença renal terminal (ClCr estimada < 15 ml/minuto) sujeitos a hemodálise crónica tratados com Biktary permanecem desconhecidas. Biktary não deve ser coadministrado simultaneamente com antiácidos contendo magnésio/alumínio ou suplementos de ferro em jejum. Biktary deve ser administrado, pelo menos, 2 horas antes ou com alimentos 2 horas depois de antiácidos contendo magnésio e/ou alumínio. Biktary deve ser administrado, pelo menos, 2 horas antes de suplementos de ferro ou tomado juntamente com alimentos. Biktary contém menos do que 1 mmol (23 mg) de sódio por comprimido, ou seja, é praticamente "isento de sódio". **INTERAÇÕES MEDICAMENTOSAS E OUTRAS FORMAS DE INTERAÇÃO:** O bictegravir é um substrato do CYP3A, da UGT1A1 e da gp-P e da BCRP. Biktary não é inibidor ou indutor do CYP *in vivo*. Biktary pode ser coadministrado com substratos do OCT2 e do MATE1. A coadministração de FTC com medicamentos que são eliminados por secreção tubular ativa pode aumentar as concentrações da FTC e/ou do medicamento coadministrado. Os medicamentos que diminuem a função renal podem aumentar as concentrações da FTC. O tenofovir alafenamida é transportado pela gp-P e pela BCRP. O tenofovir alafenamida não é um inibidor ou indutor do CYP3A *in vivo*. Biktary não deve ser administrado concomitantemente com medicamentos contendo tenofovir alafenamida, tenofovir disoproxil, lamivudina ou adefovir dipivoxil utilizados para o tratamento da infeção pelo VHB. Não se recomenda a coadministração de alguns medicamentos com Biktary: atazanavir, carbamazepina, ciclosporina (via IV ou oral), oxcarbazepina, fenobarbital, fenitoína, rifabutina, rifapentina ou sulcrato. Biktary não deve ser coadministrado com outros medicamentos antirretrovirais. Recomenda-se precaução quando bictegravir é associado com medicamentos conhecidos por inibirem a gp-P e/ou a BCRP (p. ex., macrólidos, ciclosporina, verapamil, dronedarona, glicaprevir/pibrentasvir). **EFEITOS INDESEJÁVEIS:** **BA** frequentes: depressão, sonhos anormais, cefaleias, tonturas, diarreia, náuseas e fadiga; **BA pouco frequentes:** anemia, ideação suicida, tentativa de suicídio (particularmente em doentes com história preexistente de depressão ou doença psiquiátrica), ansiedade, perturbações do sono, vômitos, dor abdominal, dispepsia, flatulência, hiperbilirrubinemia, angioedema, erupção cutânea, prurido, urticária e artralgia; **BA raros:** síndrome de Stevens-Johnson. Foi demonstrado que o bictegravir aumenta a creatinina sérica devido à inibição da secreção tubular da creatinina, no entanto, estas alterações não são consideradas como sendo clinicamente relevantes, uma vez que não refletem uma alteração da taxa de filtração glomerular. O perfil de segurança de Biktary em doentes adultos coinfetados pelo VIH/VHB foi semelhante ao de doentes com monoinfeção pelo VIH-1. Para mais informação, consultar o RCM completo disponível em: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/biktary>. Data de aprovação do RCM: maio 2021

▼ Após a aprovação da Autorização de Introdução no Mercado, este medicamento encontra-se sujeito a monitorização adicional, conforme indicado pela presença deste triângulo preto invertido. Quaisquer suspeitas de reações adversas a Biktary devem ser notificadas à Gilead Sciences, Lda., via e-mail para portugal.safety@gilead.com ou telefone para +351217928790 e/ou ao INFARMED, I.P., através do sistema nacional de notificação, via e-mail para farmacovigilancia@infarmed.pt ou telefone para +351217987373.

PARA MAIS INFORMAÇÕES DEVERÁ CONTACTAR O TITULAR DA AUTORIZAÇÃO DE INTRODUÇÃO NO MERCADO. MEDICAMENTO DE RECEITA MÉDICA RESTRITA, DE UTILIZAÇÃO RESERVADA A CERTOS MEIOS ESPECIALIZADOS. MEDICAMENTO COM AVALIAÇÃO PRÉVIA CONCLUÍDA AO ABRIGO DO ART.º 25º DO DECRETO-LEI N.º 97/2015 DE 1 DE JUNHO PARA A APRESENTAÇÃO DE 30 COMPRIMIDOS EM FRASCO.



Gilead Sciences, Lda, Atrium Saldanha, Praça Duque de Saldanha nº 1 – 8º A e B, 1050-094 Lisboa - Portugal. Tel.: 21 792 87 90 | Fax: 21 792 87 99 – N.º de contribuinte: 503 604 704. Informação Médica através do n.º verde 800 207 489 ou departamento.medico@gilead.com. Poderá comunicar informação de segurança, incluindo acontecimentos adversos a medicamentos ou situações especiais (ex. gravidez, má utilização, erros de medicação, utilização fora das indicações aprovadas, falta de eficácia) à Gilead Sciences por telefone, fax ou correio eletrónico para portugal.safety@gilead.com e/ou ao INFARMED através de <http://www.infarmed.pt/web/infarmed/submissaoarar>. Data de preparação: julho 2021 | PT-BVY-0104

ARTIGO DE REVISÃO / REVIEW ARTICLE

COVID-19: Métodos de diagnóstico e aplicações na prática clínica hospitalar

COVID-19: Diagnostic methods and applications in clinical hospital practice

/ R. Patrocínio de Jesus¹ / C. Rodrigues¹
/ S. Gomes² / P. Freitas² / P. Pacheco¹

¹ Serviço de Infeciologia, Hospital Professor Doutor Fernando Fonseca, Amadora, Portugal

² Serviço de Medicina Intensiva, Hospital Professor Doutor Fernando Fonseca, Amadora, Portugal

Correspondência:

R. Patrocínio de Jesus

Serviço de Infeciologia, IC-19 2720-276 Amadora, Portugal

Tel.: 913436907

E-mail: ana.jesus@hff.min-saude.pt

Patrocínios:

O presente estudo não foi patrocinado por qualquer entidade.

Artigo recebido em
28/05/2021

Artigo aceite para publicação em
28/09/2021

/ Resumo

O Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2 (SARS-CoV-2), agente etiológico da doença COVID-19, encontra-se na origem de uma pandemia com milhões de casos diagnosticados em todo o mundo. A rápida sequenciação genómica deste vírus de ARN permitiu o desenvolvimento de diferentes métodos de diagnóstico, dos quais a RT-PCR se apresenta como a técnica laboratorial de referência. Ao longo do último ano, outros métodos de diagnóstico foram desenvolvidos e implementados, sendo fundamental que o clínico esteja familiarizado com as respetivas mais-valias e limitações. A correta utilização dos diferentes métodos poderá permitir uma melhor interpretação dos casos identificados em contexto hospitalar, nomeadamente na avaliação de transmissibilidade e nas estratégias de controlo de infeção nas instituições de saúde.

Palavras-chave: COVID-19, diagnóstico, infeciosidade

/ Abstract

Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the aetiological agent of the respiratory tract infection called COVID-19, is at the origin of a pandemic with millions of cases diagnosed worldwide. Fast genomic sequencing of this RNA virus allowed the development of diverse diagnostic tests, of which the RT-PCR is the gold standard. During the past year, other diagnostic methods were developed and implemented, thus it is essential for the clinician to be familiar with their advantages and limitations. The correct use of the different methods may allow a better interpretation of the cases identified in hospital settings, namely in the evaluation of transmissibility and in infection control strategies in healthcare institutions.

Keywords: COVID-19, diagnosis, infectiousness

/ 1. Introdução

A identificação do vírus SARS-CoV-2 como agente etiológico da doença posteriormente designada COVID-19 motivou extensa investigação relativamente à sua dinâmica de transmissão e métodos de diagnóstico passíveis de aplicação na prática clínica diária. Através da sequenciação genómica precoce do vírus, foram desenvolvidos testes de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN), considerados atualmente como método de diagnóstico de referência.

Apesar da elevada sensibilidade destes testes, a interpretação de resultados deverá ter em consideração a prevalência da infeção na população. Durante a fase inicial da pandemia, em março de 2020, um TAAN positivo era considerado como correspondente a infeção ativa, com potencial de transmissibilidade. De acordo com evidência científica mais recente, percebe-se que a identificação de material genético do vírus pode persistir durante semanas após a infeção, não se correlacionando necessariamente com infeção ativa ou infeciosidade. No momento atual, uma parte significativa da população já esteve infetada (de forma sintomática ou assintomática), pelo que estes testes de diagnóstico não devem continuar a ser interpretados exclusivamente de forma binária (como resultado positivo ou negativo). Torna-se assim desejável uma interpretação crítica dos resultados, através da conjugação dos dados clínicos e epidemiológicos com os resultados laboratoriais de RT-PCR (cadeia da polimerase por transcrição reversa) quantitativa e serologia, de forma a optar por medidas adequadas. Esta questão é particularmente relevante em circunstâncias de rastreio, nas quais não existem à partida critérios de caso clínico suspeito.

De igual forma, a norma da DGS 004/2020 (atualizada a 14 de outubro de 2020) fornece indicações transversais relativas ao critério de duração do isolamento baseadas somente em critérios clínicos e temporais, eliminando a necessidade de repetição de testes para confirmação de cura¹. Assim, os doentes com resultado positivo que são assintomáticos deverão cumprir um período de isolamento de 10 dias, tal como aqueles que apresentam infeção ligeira ou moderada. No caso de doentes imunocomprometidos, profissionais de saúde e doentes com doença COVID-19 crítica, o período de isolamento deverá ser prolongado para 20 dias. De acordo com o Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças (ECDC), esta estratégia é adequada em cenários com recursos laboratoriais escassos². Os autores defendem que, nos hospitais que disponham de recursos adequados, deverão ser implementadas estratégias mais individualizadas de forma a aumentar a segurança e reduzir o risco de transmissão nosocomial.

/ 2. Métodos de diagnóstico

2.1. Testes de amplificação de ácidos nucleicos

Os TAAN permitem a deteção de sequências específicas de ácido ribonucleico (ARN) viral^{3,4}. Apresentam sensibilidade e especificidade elevadas, embora a sensibilidade possa variar com o

local de colheita, a qualidade da amostra e a carga viral⁵. As amostras respiratórias mantêm-se como referência para diagnóstico pela elevada concentração de carga viral e método de colheita pouco invasivo^{3,5}, sendo que a combinação de zaragatoas nasofaríngea e orofaríngea demonstrou maior sensibilidade relativamente à zaragatoa nasofaríngea isoladamente^{3,6,7}. Na doença em fase tardia ou em doentes com amostra do trato respiratório superior negativa e elevada suspeita clínica, recomenda-se a colheita de amostras do trato respiratório inferior, como expetoração, aspirado endotraqueal ou lavado broncoalveolar³.

Apesar da maior variabilidade da deteção de SARS-CoV-2 em amostras de saliva, uma meta-análise que comparou o diagnóstico em amostras de saliva com zaragatoas nasofaríngeas descreveu sensibilidade de 91% *versus* 98%⁸.

Para o diagnóstico, várias regiões genómicas podem ser identificadas e amplificadas, nomeadamente: polimerase de ARN dependente de ARN (RdRP), proteínas 1 e 2 do nucleocapsídeo (N1 e N2), proteína do envelope (E), glicoproteína de superfície *spike* (S) e regiões da grelha de leitura aberta (ORF), como o gene ORF1ab⁹. Segundo as recomendações da Organização Mundial de Saúde (OMS), o teste implementado deverá idealmente incluir a pesquisa de dois alvos independentes³.

Existem diferentes metodologias baseadas na amplificação de ácidos nucleicos. A técnica de referência para o diagnóstico de COVID-19 é a RT-PCR^{3,6}. Numa fase inicial ocorre transcrição reversa de ARN em cadeias de ADN complementar (ADNc). Posteriormente, através de mudanças de temperatura sucessivas, estas são submetidas a desnaturação, emparelhamento de *primers* (sequências complementares da região-alvo a amplificar) e extensão das cadeias por ação da polimerase. Nas técnicas quantitativas, são adicionados marcadores fluorescentes na fase de emparelhamento, que emitem fluorescência que é detetada e quantificada em intensidade, traduzindo a amplificação em tempo real das sequências de ADN¹⁰.

A medição da amplificação da sequência genómica é descrita em *Cycle thresholds* (Ct), cujo valor representa o número de ciclos necessários para amplificar o material genético da amostra até um nível detetável. Quanto maior a concentração de ARN na amostra, menor o Ct¹¹. Vários ensaios estabelecem um limite superior de Ct de 40 para que se considere um teste como positivo, embora este deva ser específico de cada laboratório, ocorrendo variabilidade de desempenho com diferentes técnicas de PCR¹². Assim, valores de Ct obtidos por diferentes ensaios de TAAN correspondem a cargas virais diferentes¹³.

Algumas das desvantagens desta técnica são os custos associados, a necessidade de equipamentos específicos e técnicos especializados¹⁴. Além disso, salvo nos métodos automatizados, a dependência do operador e a utilização de um termociclador limitam a rapidez na obtenção dos resultados.

Existem outras metodologias que permitem contornar esta limitação, como a amplificação isotérmica mediada por *loop* (LAMP) com transcriptase reversa ou a amplificação mediada por transcrição (TMA). Estas consistem na amplificação de sequências-alvo de forma semelhante à RT-PCR mas em condições isotérmicas, dispensando a utilização de termociclador. Assim, permitem uma maior rapidez nos resultados e custos menores, enquanto apresentam sensibilidade sobreponível à da RT-PCR¹⁴.

2.2. Testes rápidos de antígeno

Os testes de antígeno baseiam-se na identificação de um antígeno viral, habitualmente uma proteína de superfície, sendo para o vírus SARS-CoV-2 as proteínas N e S^{6,15}. Na sua maioria, estes testes são imunoensaios de fluxo lateral que, contrariamente aos TAAN, não amplificam o gene-alvo, pelo que comparativamente apresentam menor sensibilidade^{16,17}, embora mantenham elevada especificidade^{18,19,21,22}. A menor sensibilidade nota-se maioritariamente em doentes com Ct superior em RT-PCR, correspondentes a cargas virais inferiores. As suas vantagens consistem na redução de custos e na facilidade de utilização e rapidez dos resultados, permitindo a sua utilização enquanto testes *point-of-care*.

A OMS admite a inclusão de testes de antígeno em algoritmos diagnósticos para uma rápida identificação de casos desde que apresentem sensibilidade $\geq 80\%$ e especificidade $\geq 97-100\%$ ^{3,18}. Segundo a DGS, estes devem aplicar-se em rastreios ou diagnóstico nos primeiros 5 dias de doença, caso não se encontrem disponíveis TAAN em tempo útil, com utilização preferencial em situações de surto⁴.

Os testes de antígeno disponíveis apresentam diferenças marcadas, devendo ser tidas em conta as características do teste que se pretende implementar²⁰.

2.3. Testes serológicos

Os testes serológicos permitem a identificação de anticorpos contra o SARS-CoV-2, existindo diferentes metodologias, como ensaios de imunoabsorção enzimática (ELISA), ensaios de quimioluminescência (CLIA) e ensaios de fluxo lateral (LFA)⁶. Ao detetarem contacto passado com o vírus e desenvolvimento de resposta imune, tornam-se relevantes em estudos de seroprevalência ou na avaliação retrospectiva de surtos³.

A ocorrência tardia de seroconversão constitui uma importante limitação para diagnóstico de infeção aguda²¹. No entanto, podem ser utilizados métodos quantitativos de diferentes classes de imunoglobulinas. Estudos relatam o surgimento de IgM e IgA entre o 3.º e o 6.º dia após o início de sintomas e o de IgG entre o 10.º e o 18.º dia^{22,23}, sendo a classe de IgA aquela que parece apresentar maior sensibilidade na fase aguda.

No estudo de Guo L. *et al.*²² a associação da pesquisa de IgM a uma técnica de RT-PCR permitiu uma maior sensibilidade diagnóstica em comparação com RT-PCR isoladamente, sendo que após 5,5 dias de sintomas a taxa de positividade foi maior através de IgM comparativamente a RT-PCR.

A identificação de anticorpos não garante, no entanto, que se trate de anticorpos neutralizantes, pelo que a deteção de títulos elevados não pode ser interpretada como associada a maior proteção imunológica²⁴.

2.4. Cultura viral

O isolamento viral em cultura de células não é recomendado como teste de rotina por se tratar de um método moroso, dispendioso e pouco acessível, requerendo a manipulação de amostras em laboratórios de elevada biossegurança. A sua principal aplicação verifica-se na determinação de infeciosidade, sendo o único teste que permite afirmar, inequivocamente, a presença de partículas virais infecciosas¹⁵. Torna-se particularmente relevante em estudos de transmissão do SARS-CoV-2.

/ 3. Infeciosidade e relação com métodos de diagnóstico

O período de infeciosidade inicia-se 1-3 dias antes do surgimento de sintomas, com atingimento do pico de carga viral entre o início dos sintomas e o 5.º dia de doença, correspondente ao período de maior infeciosidade^{25,26} (Figura 1).

A duração da eliminação viral é variável, tendo sido descrita a deteção de ARN viral entre 7 e 35 dias após o início dos sintomas²⁷. No entanto, estudos por cultura viral demonstram que a identificação de vírus viável por este meio seja inferior à deteção molecular. Foi demonstrada, em meio de cultura, a ausência de vírus viável após 8²⁸⁻³⁰ a 9 dias^{31,32} desde o início dos sintomas, apesar da eliminação viral persistente, encontrando-se descrita uma probabilidade de isolamento do vírus em meio de cultura de 6%, 10 dias após o início dos sintomas³³.

Numa pequena porção de doentes em situação de imunodepressão, a eliminação de vírus viável poderá ocorrer ao longo de meses³⁴. De acordo com estudos moleculares nesta pequena amostra de doentes, verifica-se ainda o potencial de acumulação de mutações genómicas, com desenvolvimento de mecanismos de escape imunológico. Desta forma, será necessário um estudo dirigido a esta população por forma a adequar e otimizar estratégias de controlo de infeção intra-hospitalares.

Parece existir uma relação entre a viabilidade por cultura, os Ct e a carga viral. O isolamento do vírus em cultura foi relacionado com Ct inferior e carga viral mais elevada, verificando-se ausência de isolamento cultural do vírus com Ct > 24 ³⁰ ou ≥ 34 ^{29,32}. Outros estudos analisaram separadamente o resultado de RT-PCR para

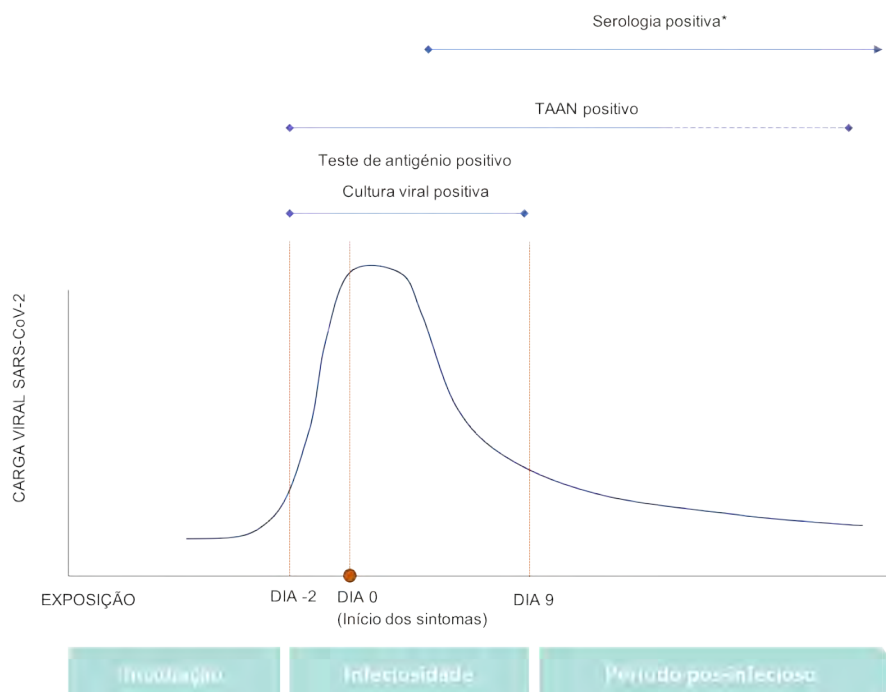


Figura 1: Relação entre a carga viral de SARS-CoV-2, a evolução clínica e os métodos de diagnóstico (imagem adaptada de²⁵) * Inicialmente IgM e IgA e posteriormente IgG

diferentes genes, estabelecendo valores-limite de Ct para cada gene indicativos de viabilidade cultural^{35,36}. Não foi possível estabelecer correlação entre sintomatologia ativa e valores de Ct, embora não pareça haver variação significativa do pico de Ct entre indivíduos sintomáticos e assintomáticos^{11,33,37}.

Os testes de antígeno poderão ser melhores preditores do potencial de infeciosidade, uma vez que a sua positividade se relaciona com carga viral mais elevada¹³. Foi reportada uma maior concordância entre testes de antígeno positivos e presença de vírus isolado por cultura viral, em comparação com RT-PCR positiva¹³. Enquanto a sensibilidade do teste de antígeno e da RT-PCR se revelaram semelhantes até aos 8 dias de sintomas, o valor preditivo positivo do primeiro mostrou-se superior ao da RT-PCR.

/ 4. Aplicações na prática clínica hospitalar

A contenção da pandemia por SARS-CoV-2 requer a aplicação combinada de vários métodos de diagnóstico com base nas suas especificidades e evidência científica disponível. No contexto atual, a interpretação binária dos TAAN tornou-se insuficiente, sendo necessária a obtenção de informação complementar (como o valor de Ct), que, enquadrada na evolução clínica, poderá ser essencial na tomada de decisões no âmbito do controlo de infeção.

4.1. Diagnóstico inicial

Os TAAN são testes adequados para o diagnóstico inicial pela sua elevada sensibilidade. Devem ser preferencialmente utilizados na admissão hospitalar e no diagnóstico de doentes internados com surgimento de sintomatologia suspeita. Desta forma, a identificação precoce de casos positivos permite evitar surtos pela correta alocação aos circuitos intra-hospitalares.

A obtenção de um resultado negativo não exclui infeção. São vários os fatores associados à ocorrência de falsos negativos, nomeadamente relacionados com a amostra (carga viral variável com o tempo de infeção e local de colheita) e com o seu processamento (colheita inadequada, degradação de ARN no transporte e armazenamento, extração de ARN ineficiente na RT-PCR, purificação inadequada)⁵. No estudo de Dugdale C. *et al.*³⁸ os falsos negativos foram infrequentes, ocorrendo maioritariamente por testagem precoce ou em fase tardia da doença ou com predomínio do trato respiratório inferior; todas elas situações em que a carga viral no trato respiratório superior é menor.

Conforme sugerido na Figura 2, perante um TAAN negativo à admissão, em contexto de elevada suspeição, deverá ser repetida a colheita. Os dados clínicos e epidemiológicos poderão também ser combinados com exames complementares, como a tomografia computadorizada (TC) do tórax. A combinação da TC com RT-PCR aumenta a sensibilidade diagnóstica³⁹.

Se após dois TAAN negativos em amostras do trato respiratório superior se mantiver a suspeição clínica, esta metodologia poderá ser aplicada numa amostra do trato respiratório inferior (lavado broncoalveolar ou expetoração). A utilização adicional de teste serológico IgM ou IgA para aumento da sensibilidade diagnóstica poderá ser considerada.

4.2. Casos assintomáticos

No rastreio de doentes admitidos em instituições de saúde, serão detetados casos assintomáticos e pré-sintomáticos de infeção por SARS-CoV-2. A interpretação de um resultado positivo de forma binária é insuficiente para determinar infeciosidade, podendo levar à utilização de recursos desnecessários em doentes que não comportam risco de transmissão e ao adiamento inadequado de tratamentos, com repercussão na qualidade dos cuidados de saúde.

Obtendo-se um resultado positivo por RT-PCR, o teste poderá ser analisado quantitativamente de forma a definir a cinética da carga viral com base nos Ct e inferir assim acerca do estágio da infeção. Num estudo prospetivo realizado no âmbito de um programa de

saúde ocupacional, foram analisados 68 testes, dos quais 46 representaram infeções agudas (sintomáticas e assintomáticas)¹¹. Concluiu-se que a realização de um segundo teste, dois dias após o primeiro teste positivo, poderia diferenciar entre fase de proliferação e *clearance* viral. Assim, na testagem de indivíduos assintomáticos com TAAN positivo, a abordagem diagnóstica poderá englobar a realização de RT-PCR quantitativa dessa amostra para obtenção do Ct que, repetido posteriormente, permitirá fundamentar decisões no âmbito clínico e de controlo de infeção. Um resultado positivo em doente assintomático deverá ser conjugado também com a história clínica (nomeadamente história de infeção no passado recente ou história de contacto de alto risco) e com a serologia.

4.3. Suspensão de isolamento

Com base nos conhecimentos científicos adquiridos, as recomendações da DGS para a suspensão de medidas de isolamento preconizam a aplicação de critérios temporais desde o primeiro teste, em indivíduos assintomáticos, ou desde o início dos sintomas (10 dias na doença ligeira a moderada e 20 dias na

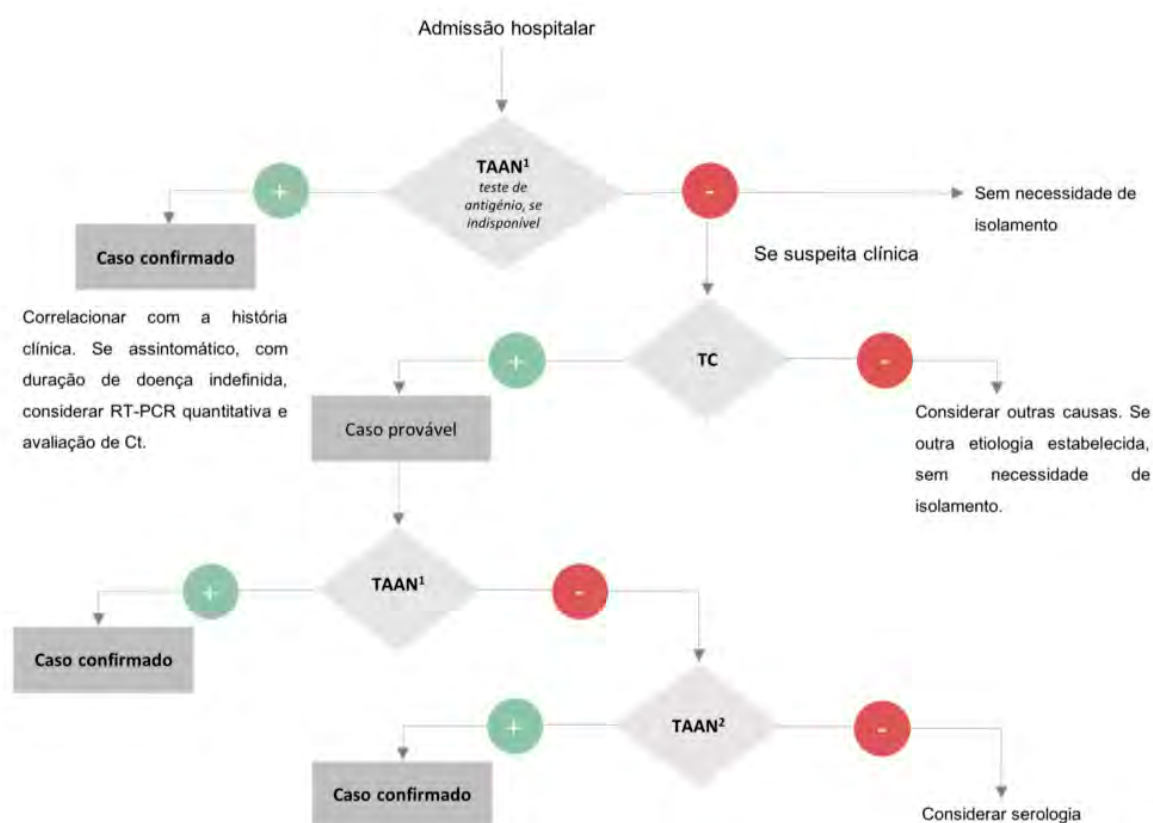


Figura 2: Possível estratégia de diagnóstico e rastreio de SARS-CoV-2 na admissão hospitalar. ¹ Amostra nasofaríngea e orofaríngea, ² Amostra do trato respiratório inferior.

doença grave ou imunodepressão grave), mediante a presença de critérios clínicos¹. Nas recomendações do ECDC, esta estratégia surge como alternativa à utilização de critérios laboratoriais de cura, de acordo com a capacidade dos sistemas de saúde e os recursos laboratoriais disponíveis².

Nas linhas orientadoras do Reino Unido, no entanto, é preconizada a realização de teste laboratorial de cura em doentes severamente imunocomprometidos, uma vez que existem incertezas quanto à duração de infeciosidade neste subgrupo, que poderá ser mais prolongada⁴⁰.

No caso de profissionais de saúde e transferências intra-hospitalares para áreas não dedicadas a doentes com COVID-19, a DGS prevê a realização de teste após os 10 dias, com suspensão das medidas de isolamento em caso de negatividade; ou aplicação do critério temporal de 20 dias no caso de positividade¹.

De forma a mobilizar precocemente doentes e profissionais com critério de cura, uma estratégia diagnóstica com integração de Ct por RT-PCR quantitativa, além dos critérios temporal e analítico, poderá reduzir a duração do isolamento. De igual forma, a realização de teste após o período definido para critério temporal de cura poderá identificar uma minoria de indivíduos que apresentem ainda risco de infeciosidade.

4.4. Testagem em contexto de infeção recente

Com a evolução da pandemia é expectável que doentes admitidos no hospital por outro motivo possam ter apresentado infeção recentemente, ainda que de forma assintomática. A DGS preconiza que não deverão ser realizados testes de diagnóstico com história de infeção confirmada nos 90 dias prévios, exceto se existir contexto epidemiológico sugestivo, ausência de diagnóstico alternativo ou em situações de imunodepressão^{1,6}. Uma vez que as instituições de saúde apresentam atualmente rastreio obrigatório à admissão, a realização de RT-PCR em caso de positividade neste contexto poderá permitir uma integração do tempo decorrido desde a infeção com base nos Ct e na presença de anticorpos.

5. Casos clínicos exemplificativos

A adequada interpretação de um teste positivo em contexto de rastreio de SARS-CoV-2 pode permitir evitar medidas de isolamento e rastreios de contacto desnecessários, bem como reduzir o impacto deletério sobre o percurso de saúde do doente; além de reduzir a necessidade de ocupação de camas em área designada COVID, minimizando o impacto nas estruturas de saúde. Por outro lado, a repetição de um teste de RT-PCR num doente com COVID-19 previamente à suspensão de medidas de isolamento, ainda que com critérios de cura temporal e clínica, poderá contribuir para minimizar a possibilidade de transmissão nosocomial da infeção. Neste contexto, são apresentados abaixo alguns casos clínicos exemplificativos, nos quais foi implementada

a metodologia sugerida pelos autores. A implementação não crítica em meio hospitalar da norma da DGS 004/2020, que preconiza as medidas de isolamento de casos positivos sem ter em conta uma interpretação clínica e epidemiológica dos resultados, poderá condicionar uma utilização excessiva de recursos desnecessários, bem como ter impacto no percurso de tratamento do doente.

Caso Clínico 1

Homem de 53 anos, com antecedentes conhecidos de doença hepática crónica. Admitido no Serviço de Urgência (SU) a 25 de fevereiro de 2021 por hematemese e melenas. Analiticamente com anemia e trombocitopenia, sem elevação de parâmetros inflamatórios. Radiografia de tórax sem alterações. O teste de rastreio para SARS-CoV-2 na admissão foi positivo (TMA, sistema Hologic Panther), não havendo história prévia de infeção. Neste contexto, ficou internado em enfermaria dedicada (área multidisciplinar COVID). Na reavaliação da história clínica e através da aplicação "Trace-COVID", constatou-se que os coabitantes tinham tido diagnóstico de infeção SARS-CoV-2 no mês anterior. O doente teria estado nessa altura em isolamento preventivo mas sem ter realizado teste de rastreio. O teste RT-PCR foi repetido nos dias 3 e 4 de março, ambos com resultado negativo. A serologia mostrou anticorpos IgG 217 U/mL. A integração dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais permitiu concluir a existência de uma infeção assintomática prévia, curada no internamento descrito, sem necessidade de manter medidas de isolamento ou indicação para rastreio de contactos.

Explicação: os TAAN com amplificação mediada por transcrição (neste caso, sistema Hologic Panther) apresentam elevada sensibilidade, detetando genes da região ORF, que persistem durante longo tempo após infeção aguda. Não sendo testes quantitativos, reportam resultados de forma binária.

Caso clínico 2

Homem de 82 anos, com antecedentes conhecidos de linfoma não Hodgkin do manto, hipertensão arterial, diabetes mellitus tipo 2 e fibrilhação auricular crónica. Observado no SU a 7 de fevereiro de 2021 por quadro clínico com 3 dias de evolução de dispneia, tosse e febre, apresentando pesquisa de SARS-CoV-2 positiva (TMA, sistema Hologic Panther), embora sem critérios de gravidade para internamento. Recorreu novamente ao SU a 28 de fevereiro por prostração e hematoquézias, mantendo teste positivo (gene N Ct: 17.19, gene E Ct: 15.22, gene RdRp Ct: 15.71). Foi internado em área de internamento multidisciplinar COVID sem nunca ter evidenciado patologia respiratória. Durante a permanência em internamento manteve teste positivo indicativo de elevada replicação viral e risco de transmissibilidade, sendo que cerca de 6

semanas após o primeiro teste positivo mantinha RT-PCR quantitativa com gene N Ct: 15.71, gene E Ct: 13.75, gene RdRp Ct: 15.41. O teste de antígeno era igualmente positivo.

Explicação: o caso ilustra a possibilidade de persistência de replicação viral apesar de critérios de cura clínica e temporal, alertando para a pertinência da realização de testes moleculares previamente à suspensão de medidas de isolamento, nomeadamente em doentes severamente imunodeprimidos.

/ 6. Conclusões

O conhecimento dos diferentes métodos laboratoriais disponíveis para o diagnóstico de SARS-CoV-2, bem como as suas características e aplicações práticas, permite não apenas o diagnóstico, mas também a utilização da informação que traduzem para a vigilância em saúde pública e mitigação da doença.

Uma adequada utilização dos testes diagnósticos disponíveis possibilita o aumento da rentabilidade diagnóstica em doentes admitidos em contexto hospitalar com uma correta alocação nos circuitos intra-hospitalares. Permite igualmente suportar com segurança a suspensão de isolamento em indivíduos assintomáticos ou com resolução clínica de doença.

Em Portugal a maioria dos laboratórios emite o resultado dos TAAN de forma binária. A inclusão do valor de Ct aquando da realização de RT-PCR quantitativa permite a integração desta informação com dados clínicos e epidemiológicos de forma a inferir infeciosidade. É essencial a correta interpretação de resultados obtidos na elaboração e implementação de estratégias adaptadas às diversas situações clínicas, para uma utilização racional dos métodos diagnósticos disponíveis. Para tal, é necessária investigação adicional para validação destes métodos nos diferentes cenários clínicos.

/ Bibliografia

1. DGS. Norma 004/2020 COVID-19: Abordagem do Doente com Suspeita ou Confirmação de COVID-19. 2020.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Guidance for discharge and ending isolation of people with COVID-19. 2020.
3. WHO. Diagnostic testing for SARS-CoV-2: Interim guidance. 2020.
4. DGS. Norma 019/2020: COVID-19 Estratégia Nacional de Testes para SARS-CoV-2. 2020.
5. Feng W, Newbigging AM, Le C, Pang B, Peng H, Cao Y, et al. Molecular Diagnosis of COVID-19: Challenges and Research Needs. *Anal Chem*. 2020;92(15):10196–10209.
6. ECDC. Diagnostic testing and screening for SARS-CoV-2 [homepage na Internet]; [consultado a 2020 out 29]. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/en/covid-19/latest-evidence/diagnostic-testing>
7. Sutjipto S, Lee PH, Tay JY, Mendis SM, Abdad MY, Marimuthu K, et al. The effect of sample site, illness duration and the presence of pneumonia on the detection of SARS-CoV-2 by real-time reverse-transcription PCR. *Open Forum Infect Dis*. 2020;7(9):ofaa335.
8. Czumbel LM, Kiss S, Farkas N, Mandel I, Hegyi A, Nagy A, Lohinai Z, et al. Saliva as a Candidate for COVID-19 Diagnostic Testing: A Meta-Analysis. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:465.
9. Mollaei HR, Afshar AA, Kalantar-Neyestanaki D, Fazlalipour M, Aflatoonian B. Comparison five primer sets from different genome region of COVID-19 for detection of virus infection by conventional RT-PCR. *Iran J Microbiol*. 2020;12(3):185–193.
10. Ward S, Lindsley A, Courter J, Assa'ad A. Clinical testing for COVID-19. *J Allergy Clin Immunol*. 2020;146(1):23–34.
11. Kissler SM, Fauver JR, Mack C, Olesen SW, Tai C, Shiue KY, et al. SARS-CoV-2 viral dynamics in acute infections. [preprint] *bioRxiv*. 2020.
12. Tom MR, Mina MJ. To Interpret the SARS-CoV-2 Test, Consider the Cycle Threshold Value. *Clin Infect Dis*. 2020;71(16):2252–2254.
13. Pekosz A, Parvu V, Li M, et al. Antigen-Based Testing but Not Real-Time Polymerase Chain Reaction Correlates with Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Viral Culture. *Clin Infect Dis*. 2021;ciaa1706. doi:10.1093/cid/ciaa1706.
14. Islam KU, Iqbal J. An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. *Front Cell Infect Microbiol*. 2020;10:560616.
15. Weissleder R, Lee H, Ko J, Pittet MJ. COVID-19 diagnostics in context. *Sci Transl Med*. 2020;12(546):eabc1931.
16. Mak GC, Cheng PK, Lau SS, et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. *J Clin Virol*. 2020;129:104500.
17. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol*. 2020;129:104455.
18. WHO. Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays Interim guidance. 2020.
19. Porte L, Legarraga P, Vollrath V, Aguilera X, Munita JM, Araos R, et al. Evaluation of a novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. *Int J Infect Dis*. 2020;99:328–333.
20. Corman VM, Haage VC, Bleicker T, Schmidt ML, Muhlemann B, Zuchowski M, et al. Comparison of seven commercial SARS-CoV-2 rapid Point-of-Care Antigen tests. [preprint] *bioRxiv*. 2020.
21. Velay A, Gallais F, Benotmane I, Wendling MJ, Danion F, Collange O, et al. Evaluation of the performance of SARS-CoV-2 serological tools and their positioning in COVID-19 diagnostic strategies. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2020;98(4):115181.
22. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020;71(15):778–785.
23. Ma H, Zeng W, He H, Zhao D, Jiang D, Jiang D, et al. Serum IgA, IgM, and IgG responses in COVID-19. *Cell Mol Immunol*. 2020;17(7):773–775.
24. Lippi G, Mattiuzzi C, Bovo C, Plebani M. Current laboratory diagnostics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Acta Biomed*. 2020;91(2):137–145.
25. Cevik M, Marcus JL, Buckee C, Smith TC. SARS-CoV-2 transmission dynamics should inform policy. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa1442.
26. Cevik M, Tate M, Lloyd O, Maraolo AE, Schafers J, Ho A. SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-CoV viral load dynamics, duration of viral shedding, and infectiousness: a systematic review

and meta-analysis. *Lancet Microbe*. 2021;2(1):e13–e22.

27. Jefferson T, Spencer EA, Brassey J, Heneghan C. Viral cultures for COVID-19 infectivity assessment – a systematic review. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa1764.
28. Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, Seilmaier M, Zange S, Müller MA, et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*. 2020;581(7809):465–469.
29. La Scola B, Le Bideau M, Andreani J, Hoang VT, Grimaldier C, Colson P, et al. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020;39(6):1059–1061.
30. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, et al. Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clin Infect Dis*. 2020;71(10):2663–2666.
31. COVID-19 Investigation Team. Clinical and virologic characteristics of the first 12 patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the United States. *Nat Med*. 2020;26(6):861–868.
32. Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, Kimball A, James A, Jacobs JR, et al. Presymptomatic

SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med*. 2020;382(22):2081–2090.

33. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Bernal JL, Saliba V, Ellis J, et al. Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Euro Surveill*. 2020;25(32):2001483.
34. Truong TT, Ryutov A, Pandey U, Yee R, Goldberg L, Bhojwani D, et al. Persistent SARS-CoV-2 infection and increasing viral variants in children and young adults with impaired humoral immunity. [Preprint] *medRxiv*. 2021;2021.02.27.21252099.
35. Huang CG, Lee KM, Hsiao MJ, Yang SL, Huang PN, Gong YN, Hsieh TH, et al. Culture-Based Virus Isolation to Evaluate Potential Infectivity of Clinical Specimens Tested for COVID-19. *J Clin Microbiol*. 2020;58(8):e01068–20.
36. Basile K, McPhie K, Carter I, Alderson S, Rahman H, Donovan L, et al. Cell-based culture of SARS-CoV-2 informs infectivity and safe de-isolation assessments during COVID-19. *Clin Infect Dis*. 2020;ciaa1579.
37. Ladhani SN, Chow JY, Janarthanan R, Fok J, Crawley-Boevey E, Vusirikala A, et al.

Investigation of SARS-CoV-2 outbreaks in six care homes in London, April 2020. *EClinicalMedicine*. 2020;26:100533.

38. Dugdale CM, Anahtar MN, Chiosi JJ, Lazarus JE, McCluskey SM, Ciaranello AL, Gogakos T, et al. Clinical, laboratory, and radiologic characteristics of patients with initial false-negative SARS-CoV-2 nucleic acid amplification test results. *Open Forum Infect Dis*. 2020;ofaa559. 2020 Nov 24.
39. Fang Y, Zhang H, Xie J, Lin M, Ying L, Pang P, et al. Sensitivity of Chest CT for COVID-19: Comparison to RT-PCR. *Radiology*. 2020;296(2):E115–E117.
40. Public Health England. Guidance for stepdown of infection control precautions and discharging COVID-19 patients and asymptomatic SARS-CoV-2 infected patients. [homepage na Internet]; [consultado a 2021 Abr 3]. Disponível em: <https://www.gov.uk/government/publications/covid-19-guidance-for-stepdown-of-infection-control-precautions-within-hospitals-and-discharging-covid-19-patients-from-hospital-to-home-settings/guidance-for-stepdown-of-infection-control-precautions-and-discharging-covid-19-patients>.