

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA EDUCAÇÃO E SAÚDE
GRADUAÇÃO EM BIOMEDICINA

BÁRBARA CHRISTINA BATISTA SANTOS

**DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19: VANTAGENS E
DESVANTAGENS DAS METODOLOGIAS APLICADAS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado em forma de artigo como requisito do Curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília (CEUB), sob orientação da Prof.^a Dr.^a Kelly Cristina Rodrigues Simi.

BRASÍLIA
2021

Diagnóstico laboratorial da covid-19: vantagens e desvantagens das metodologias aplicadas

Bárbara Christina Batista Santos¹
Kelly Cristina Rodrigues Simi²

Resumo

Esta revisão bibliográfica tem por objetivo discutir as vantagens e desvantagens das metodologias aplicadas para o diagnóstico laboratorial da infecção por SARS-CoV-2, a COVID-19. No ano de 2020, o mundo se deparou com uma pandemia que matou 4,93 milhões de pessoas. O vírus se espalhou rapidamente pela China e posteriormente casos foram identificados em outros países. Estudos foram feitos para determinar técnicas de diagnóstico para identificar os casos e controlar a transmissão do vírus. Para diagnóstico laboratorial da COVID-19 a reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) é considerada a técnica padrão ouro e existem os exames sorológicos para avaliar a resposta imunológica das pessoas que foram infectadas. Cada metodologia possui vantagens e desvantagens a depender do tempo e o tipo da amostra biológica coletada e deve-se avaliar os aspectos clínicos e tempo de infecção para determinar qual exame será realizado para garantir o diagnóstico preciso.

Palavras-chave: COVID-19, SARS-CoV-2, diagnóstico laboratorial, RT-PCR, sorologia, testes-rápidos

Covid-19 laboratory diagnosis: advantages and disadvantages of the applied methodologies

Abstract

This bibliographic review aims to discuss the advantages and disadvantages of the methodologies applied for the laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 infection, COVID-19. In 2020, the world was faced with a pandemic that killed 4.93 million people. The virus spread rapidly through China and later cases were identified in other countries. Studies have been done to determine diagnostic techniques to identify cases and control the virus transmission. For laboratory diagnosis of COVID-19, the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) is considered the gold standard technique and there are serological tests to evaluate the immune response of people who have been infected. Each methodology has advantages and disadvantages depending on the time and type of biological sample collected, and one must evaluate the clinical aspects and time of infection to determine which test will be performed to ensure accurate diagnosis.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, laboratory diagnosis, RT-PCR, serology, rapid tests

¹ Graduanda do curso de Biomedicina do Centro Universitário de Brasília – CEUB.

² Bióloga, Mestrado em Patologia Molecular, Doutorado em Ciências Biológicas (Biologia Molecular) - Professora do Centro Universitário de Brasília –CEUB

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos tempos houve um aumento no número de surtos de vírus e bactérias que dão origem a novas doenças que são espalhadas por todos os continentes. Entretanto, relatos históricos de pandemias vão além do século XX e já preocupam a humanidade há dois mil anos. A ausência de métodos de diagnóstico e exames que detectavam a presença de micro-organismos atrasava o diagnóstico das doenças e impedia que medidas de precaução coerentes fossem tomadas. As consequências das pandemias do passado evidenciaram a necessidade de investimento na ciência e saúde em relação aos métodos de diagnóstico e prevenção no surgimento de novas doenças (MOREIRA *et al.*, 2020).

Desde os primórdios da medicina já havia relatos da utilização práticas que auxiliavam no diagnóstico de doenças. Mas foi somente por volta do século 19 com o desenvolvimento da química, da fisiologia, da fisiopatologia e do microscópio que houve um grande desenvolvimento de métodos diagnósticos. Sendo assim, os exames laboratoriais e complementares são ferramentas que auxiliam no fornecimento de informações adicionais sobre um paciente (FISCHBACH, 2016).

Por isso, quando aplicados de forma adequada, os exames podem reduzir incertezas do raciocínio clínico e facilitar a confirmação ou exclusão diagnóstica, indicando a etiologia de alguma doença presente e eventualmente indicar a melhor conduta terapêutica a ser assumida. Entretanto, para que um método laboratorial tenha utilidade clínica ele deve preencher alguns requisitos básicos que garantam a confiabilidade dos resultados obtidos em amostras de pacientes, estes requisitos incluem sensibilidade, a especificidade, a precisão e a exatidão. Os exames para diagnosticar indivíduos sintomáticos, isto é que apresentam sinais e sintomas característicos da infecção, em contextos epidêmicos, devem possuir alta sensibilidade e especificidade (> 99%) (ANDRIOLO, 2019)

Um exame ideal é aquele que é capaz de identificar corretamente quando uma pessoa está doente ou sadia. Em outras palavras, um exame deve ser específico e sensível. A sensibilidade é a capacidade que uma metodologia possui em diagnosticar os indivíduos que verdadeiramente são positivos, ou seja, aqueles que estão doentes. Já a especificidade é a capacidade de indicar aqueles que verdadeiramente são negativos, ou seja, aqueles que estão saudáveis (ALMEIDA; ROUQUAYROL, 1990).

Diversos casos de pneumonia surgiram na cidade de Wuhan, província de Hubei, na China em dezembro de 2019, entretanto a causa era desconhecida. Através da análise do material genético isolado, constatou-se que o agente etiológico era um novo beta coronavírus

da família *coronaviridae* que foi denominado 2019-nCoV pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Esse passou a ser chamado de SARS-CoV-2 (do inglês “*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*”) e a infecção por esse vírus causa a COVID-19 (do inglês, “*Coronavirus Disease 2019*”) (CHEN *et al.*,2020; ZHANG *et al.*,2020; BEECHING *et al.*, 2020).

A doença se espalhou rapidamente pela China e posteriormente novas infecções por SARS-CoV-2 foram identificados em pacientes de outros países, principalmente na Itália, na Espanha e nos Estados Unidos. Em 30 de janeiro de 2020, a OMS declarou a doença como uma emergência de saúde pública global e, em 12 de março de 2020, ela passou a ser considerada uma pandemia e a doença já havia sido identificada no Brasil também (GUAN *et al.*,2020; OMS, 2020).

Desse modo, cientistas realizaram estudos para determinar técnicas de diagnóstico precisas com o intuito de identificar os casos, isolá-los e evitar a transmissão do vírus. Para diagnóstico laboratorial da COVID-19 a reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para amostras coletadas no trato respiratório superior é considerada a técnica padrão ouro, ou seja, é o teste padrão que serve de exemplo e comparação para validar outros testes, com o intuito de avaliar a exatidão, garantindo resultados que asseguram o maior número de acertos para determinar o diagnóstico real. (LAGO; WALTER, 2013).

Outros estudos foram realizados a fim de estabelecer diagnósticos sorológicos para avaliar a resposta imunológica das pessoas que foram infectadas. Já se sabia que respostas sorológicas, incluindo a imunoglobulina M viral (IgM) e a imunoglobulina G viral (IgG), poderiam permitir o diagnóstico de algumas outras infecções através do soro. Foi demonstrado que pacientes com pneumonia causada por SARS-CoV-2 também possuíam respostas imunológicas semelhantes (HSUEH *et al.*, 2004; LAGO; WALTER, 2013; BRASIL, 2020 LIPPI *et al.*, 2020)

Este trabalho tem como objetivo apresentar os principais testes de diagnósticos da infecção por SARS-CoV-2 e descrever as vantagens e as desvantagens das metodologias selecionadas.

2. METODOLOGIA

Este trabalho trata-se de uma revisão narrativa na qual tem por objetivo expor o conhecimento sobre uma questão ampla, além de ser constituído de análises da literatura publicadas em livros, artigos de revistas eletrônicas para obter resultados de pesquisas de outros autores a fim de fundamentar teoricamente o objeto da pesquisa (ROTHER, 2007).

Para a seleção dos artigos foram utilizadas pesquisas na Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), a plataforma de busca PUBMED que utiliza a base de dados da MEDLINE e na biblioteca SciELO - *Scientific Electronic Library Online*. Como critério de busca foram utilizados os termos: diagnóstico laboratorial da COVID-19 nos idiomas inglês e português. Foram utilizadas publicações feitas entre os anos de 2019 e 2021, no entanto, em situações excepcionais, artigos anteriores ao ano de 2019 foram usados.

3. DESENVOLVIMENTO

No dia 12 de março de 2020, a OMS declarou a COVID- 19 (do inglês “*Coronavirus disease*” 2019) causada pelo vírus SARS-CoV-2 (do inglês “*Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2*”) como uma pandemia global. De acordo com a OMS até o mês de outubro de 2021 houve mais de 248 milhões de casos de COVID-19 confirmados e 5,01 milhões de mortes. O fato da COVID-19 ter sido considerada uma pandemia mundial mostrou que é necessário a implantação de técnicas precisas para o diagnóstico de casos suspeitos (OMS, 2021).

Os testes de diagnóstico para a COVID-19 são críticos para entender a epidemiologia e impedir a transmissão do SARS-CoV-2, além disso, se forem sensíveis e de rápido resultado podem ajudar a identificar, isolar e tratar os pacientes com o intuito de minimizar o risco de contaminação e diminuir os índices de mortalidade. A COVID-19 é uma doença que tem variações em seus aspectos clínicos, podendo se manifestar de forma assintomática em alguns pacientes ou até quadros graves que podem levar a óbito. Segundo a OMS, cerca de 80% das pessoas diagnosticadas podem ser assintomáticos ou oligo sintomáticos, ou seja, apresentarem nenhum ou poucos sintomas, respectivamente, e, aproximadamente, 20% dos casos confirmados necessitam de assistência hospitalar. Os sintomas podem variar de um resfriado comum até uma síndrome gripal, nesse caso pode evoluir para um quadro respiratório agudo caracterizado por febre, dor de garganta, dor de cabeça, tosse, coriza, e até uma pneumonia

grave que pode levar ao óbito. A transmissão do vírus ocorre pelo contato direto com superfícies contaminadas ou com pessoas infectadas e o tempo de incubação pode ser de até 14 dias. Durante esse período, mesmo que o paciente não apresente nenhum sintoma é possível que ele espalhe o vírus para outras pessoas e contamine o ambiente (CDC, 2020; OMS 2020).

3.1 Estrutura do vírus

O SARS-CoV-2 é um vírus pertencente à família *coronaviridae* que foi identificado pela primeira vez em Wuhan na China. Ele possui um invólucro lipídico e o seu genoma completo está inscrito em uma fita única de ácido ribonucleico (RNA). Algumas proteínas presentes na superfície do vírus atuam como facilitadores da sua entrada nas células hospedeira, como as estruturas espiculadas em sua superfície chamadas de proteínas Spike, que se assemelham a uma coroa, por isso o nome “coronavírus” do latim “corona = coroa” (figura 1). Acredita-se que a maioria dos efeitos citotóxicos que levam a células infectadas a se degenerarem estão associadas a essa proteína, representando então, um importante fator de virulência desse vírus (RUCH; MACHAMER, 2020).

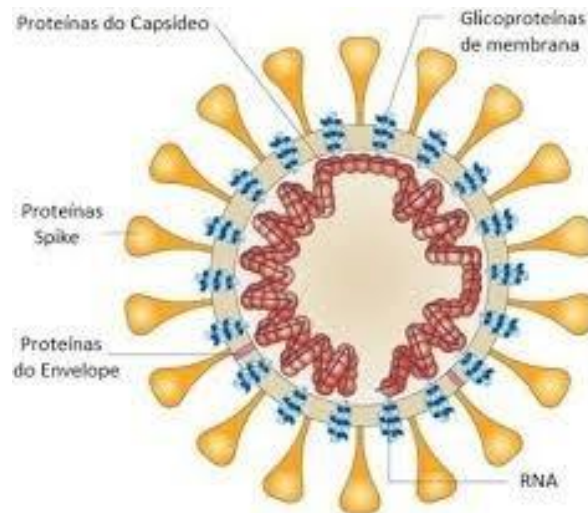


Figura 1: Esquema representativo da estrutura do Coronavírus.

Fonte: Adaptado de KUMAR *et al.*, 2021

3.2 Patogenia e fisiopatologia

O SARS-CoV-2 entra no organismo humano através de contato direto com outras pessoas infectadas e o vírus penetra o trato respiratório superior pela mucosa nasal. As células desse tecido são recobertas com receptores ECA2 (Enzima conversora da Angiotensina 2), aos quais as proteínas espiculadas (proteínas Spike) se ligam para penetrar e utilizar os mecanismos celulares para se reproduzir, multiplicar e infectar novas células (FERGUSON *et al.*, 2020, GORBALENY, 2020).

As células humanas, quando infectadas por vírus, são reconhecidas pelo sistema imune inato e adaptativo. O sistema imune inato é o primeiro a agir e é composto pela ação das células fagocitárias, da ativação do sistema complemento e pela produção de quimiocinas e citocinas. Já o sistema imune adaptativo age ativando células do tipo TCD8⁺ que vão exercer citotoxicidade pelo reconhecimento de antígenos virais e outros processos que levam a lise das células infectadas e dos vírus. Há também, a ativação das células TCD4⁺, que vão agir com as células B na produção de anticorpos (TAY *et al.*, 2020).

Embora a resposta imune seja fundamental para a defesa dos microrganismos causadores de doenças infecciosas, os principais aspectos patológicos não estão relacionados com uma ação direta do agente etiológico, mas sim com uma resposta imune exacerbada. Caso o sistema imune não seja capaz de interromper a infecção com a imunidade inata, o vírus progride pelo trato respiratório até os alvéolos pulmonares, ricos em receptores ECA2 e lá ocorre a migração de leucócitos pela ação das citocinas, que na maioria dos casos pode piorar o estado clínico do paciente (ZHANG *et al.*, 2020).

3.3 Diagnóstico laboratorial

Sendo assim, cada exame tem um período específico da infecção para ser realizado e amostras biológicas ideais para que a detecção do material genético do vírus ou de anticorpos seja eficaz (YONGCHEN *et al.*, 2020).

3.3.1 RT-PCR

A técnica padrão-ouro reconhecida pela OMS é o RT-PCR (do inglês “*Reverse Transcriptase Polimerase Chain Reaction*”) que consiste em um exame de biologia molecular que visa detectar a presença de material genético específico do SARS-CoV-2. Antigamente a

metodologia utilizava marcadores com isótopos radioativos para detectar os materiais genéticos alvo, mas hoje é mais comum o uso de marcadores fluorescentes e é uma das técnicas mais utilizadas para o diagnóstico de COVID-19 (OMS, 2020).

O Ministério da Saúde (MS) recomenda que a coleta da amostra para a realização do teste seja feita entre o 3º e 7º dias do início dos sintomas, quando se espera que a quantidade de carga viral seja maior. Após 7 dias, a carga viral começa a cair e consequentemente a positividade do teste, como mostra na figura 2. No entanto, algumas situações podem resultar em falsos negativos em pessoas que estão infectadas como: uma quantidade insuficiente de amostra durante a coleta, coleta precoce ou tardia (ou seja fora do intervalo de tempo recomendado), após a coleta a amostra não ter sido manuseada, acondicionada e transportada adequadamente, e problemas inerentes a realização do teste, como mutação do vírus (PHADKE; SAUNIK, 2020).

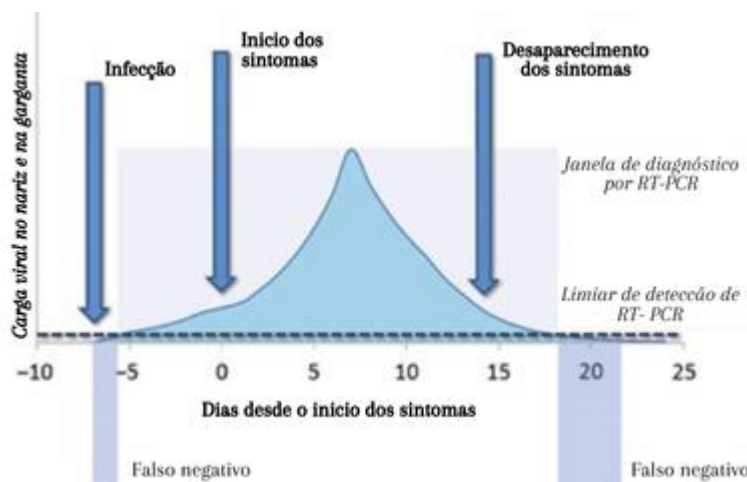


Figura 2: Relação entre a carga viral durante a infecção por SARS-CoV-2 e a positividade em ensaios de RT-PCR

Fonte: Adaptado de LIPPI *et al.*, 2020

Por ser um vírus de RNA, para que o SARS-CoV-2 seja identificado é necessário que uma fita de DNA complementar (cDNA) seja gerada através da ação da enzima Transcriptase Reversa. Após esse processo, são inseridos dois iniciadores que são sequências específicas que se ligam a uma região do material genético para amplificar um alvo específico, ou seja partes do SARS-CoV-2. Ao se ligarem e realizarem a etapa de amplificação, uma sonda complementar revela o conteúdo molecular do agente pesquisado e um equipamento mostra as regiões que foram amplificadas confirmando o diagnóstico (VIEIRA; EMERY; ADRIOLO, 2020).

Em alguns casos, o RNA viral pode ser detectado por RT-PCR mesmo após a 6ª semana do primeiro teste positivo. Alguns casos também foram relatados positivos após dois testes PCR

negativos consecutivos, realizados com 24 horas de intervalo. Não está claro se este é um erro de teste, reinfecção ou reativação. Sendo assim, a linha do tempo da positividade da PCR é diferente em amostras que não sejam swabs nasofaríngeos. A especificidade da maioria dos testes RT-PCR é alta porque o projeto do iniciador utilizado na reação é específico para a sequência do genoma do SARS-CoV-2. Resultados ocasionais de falsos positivos podem ocorrer devido a erros técnicos e contaminação de reagentes (WANG *et al.*, 2020).

Embora o RT-PCR seja considerado o teste padrão-ouro para o diagnóstico da COVID-19 há algumas desvantagens na sua realização que incluem a necessidade profissionais treinados, estrutura laboratorial qualificada para a execução e o tempo necessário entre coletar a amostra e divulgar o resultado que pode levar até 24h em alguns laboratórios. Apesar disso, para pacientes sintomáticos na fase aguda esse continua sendo o teste de escolha (LOEFFELHOLZ; TANG, 2020).

3.3.2 Sorologia

A sorologia visa detectar no soro de um paciente a presença de anticorpos contra o SARS-CoV-2. Geralmente se pesquisam dois tipos de imunoglobulinas, a do tipo M (IgM) e a do tipo G (IgG) que em caso de presente no indivíduo indicam imunidade (VIEIRA; EMERY; ADRIOLO, 2020).

Ao ser exposto ao vírus, o indivíduo inicia a resposta imune e a produção dos anticorpos contra o SARS-CoV-2, na maioria dos casos. Esta produção depende de vários fatores como: concentração viral, genótipo viral, imunidade e genética do hospedeiro e o paciente pode apresentar ou não manifestações clínicas. Para a realização dos testes é importante levar em consideração a janela imunológica, que consiste no intervalo entre a exposição viral e a capacidade dos testes em identificar algum marcador que caracterize a doença, por exemplo, a presença dos anticorpos. Para a COVID-19 o período médio de janela imunológica é de 7 a 10 dias, mas pode variar para períodos mais curtos e mais longos, dependendo dos fatores acima (WANG *et al.*, 2020).

Estudos que estão sendo realizados para entender a resposta do organismo contra o SARS-COV-2 sugerem que a IgM pode ser detectada durante a primeira semana desde o início dos sintomas, entretanto pode possuir níveis variáveis no estágio inicial. A IgG pode ser detectada depois de oito dias desde o início dos sintomas e, depois de catorze dias, mais de 90% dos casos apresentam anticorpos contra o SARS-CoV-2. Todavia, a intensidade da resposta dos

anticorpos depende de vários fatores (estado nutricional, severidade da doença e imunidade) e foi observado que alguns pacientes não produzem níveis detectáveis de anticorpos (GUO *et al.*, 2020; THREE *et al.*, 2020)

Portanto, os métodos sorológicos possuem utilidade limitada para diagnosticar infecção recente por COVID-19 já que a sensibilidade é baixa durante os primeiros dias, e aumenta com o tempo. Entretanto, os testes sorológicos podem ter um importante papel na confirmação tardia de COVID-19, principalmente em pacientes com resultados negativos de RT-PCR, tanto quanto garantir informações sobre a situação imunológica de pacientes assintomáticos e para contribuir com a determinação da taxa de prevalência e mortalidade. A combinação dos testes de detecção por RT-PCR e IgM/IgG pode providenciar uma abordagem adequada para o diagnóstico de COVID-19 (LI *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2020).

3.3.2.1 ELISA

O ensaio imunoenzimático ELISA (do inglês “Enzyme Linked Immunosorbent Assay”) é um teste que identifica a presença de anticorpos no soro do paciente através de uma ligação específica de um antígeno viral que fica localizado na superfície da placa de teste. Essa ligação é evidenciada quando um anticorpo vinculado a uma enzima na presença do substrato gera uma reação colorida que pode ser semiquantificada através de leitores de densidade ótica e uma curva ou valor de referência (BOAVENTURA *et al.*, 2020).

Sendo assim, esse teste vai detectar diferentes classes de Imunoglobulinas (Ig) sendo a maioria dos *kits* de IgG ou de anticorpos totais, que reconhecem dois dos principais antígenos imunogênicos do SARS-CoV-2: a proteína do nucleocapsídeo ou a proteína Spike. Entretanto os testes de ELISA não estão sendo tão utilizados no momento devido a necessidade de profissionais experientes na realização do exame que requer muitas operações manuais (NICOL *et al.*, 2020; WOLFF *et al.*, 2020).

3.3.2.2 Quimiluminescência

Os ensaios de quimiluminescência (CLIA) são semelhantes ao ELISA pois também buscam detectar a presença de anticorpos em uma amostra de soro, contudo, essa detecção se dá por meio de uma reação enzimática quimiluminescente. Em comparação com o ELISA, o CLIA é totalmente automatizado e geralmente leva menos tempo, por isso pode ser considerada

uma técnica superior pelos aspectos de sensibilidade, segurança e desempenho (NAKANO; KURANO; MORITA *et al.*, 2021).

Essa metodologia também utiliza como antígeno as proteínas Spikes e partículas do nucleocapsídeo, já que elas aparentam ser alvos promissores para a detecção de anticorpos do coronavírus. Na reação, uma luz é emitida por uma ação indireta que é proporcional com a quantidade de anticorpos específicos na amostra, ou seja, quanto maior a luz emitida, maiores serão as quantidades de anticorpos presentes naquela amostra (BOUNER *et al.*, 2020).

3.3.3 Testes rápidos

Os Testes rápidos (TR) são aqueles cuja execução, leitura e interpretação dos resultados são feitas em, no máximo, 30 minutos. Além disso, são fáceis de serem realizados e na maioria das vezes não necessitam de estrutura laboratorial. Há muitos TR disponíveis no mercado, porém, nem todos possuem as características de desempenho, sensibilidade e especificidade ideais para o diagnóstico preciso de doenças, geralmente eles servem para triagem (LIU *et al.*, 2020).

A maioria deles possui mecanismos que funcionam a base de reações de imunocromatografia que consiste em uma fita de nitrocelulose que contém partículas que vão detectar a presença de antígenos ou anticorpos. Caso o teste seja para pesquisa de anticorpos, haverá antígenos proteínas sintéticas criadas exatamente para essa pesquisa, para a captura dos anticorpos presentes na amostra de soro ou plasma. Caso a pesquisa seja para antígenos, haverá anticorpos imobilizados para a captura dos antígenos presentes na amostra de *swab* de nasofaringe. O uso destes testes para detecção de anticorpos em resposta ao SARS-CoV-2 ou do próprio antígeno para testagem de população, poderia ser um passo importante no entendimento da pandemia, o que ajudaria a estabilizar as políticas de controle da pandemia de COVID-19 (PAN *et al.*, 2020; OMS, 2020; LIN *et al.*, 2020; GROBUSCH; HÄNSCHEID, 2014).

Um estudo realizado por Tolannes *et al* (2020) mostrou que se um paciente com RT-PCR positivo para COVID-19 e negativo na detecção de anticorpos havia a possibilidade de algumas hipóteses explicativas: 1) O estágio da infecção é muito recente para que tivesse formação de anticorpos; 2) O nível de anticorpos produzidos é muito baixo para ser detectado; 3) Paciente não produziu anticorpos; 4) Um resultado falso negativo do teste rápido; 5) Um resultado falso positivo da RT-PCR. Por outro lado, se um paciente tivesse um RT-PCR

negativo e anticorpos detectáveis em um teste rápido foi levantado algumas explicações plausíveis: 1) Teste rápido falso positivo (por reação cruzada com outros anticorpos); 2) Resultado falso negativo no RT-PCR ou 3) o Participante está se recuperando da COVID-19 e já havia eliminado o vírus antes dos testes PCR. A comparação dos resultados de vários testes rápidos entre si pôde fornecer alguma ideia sobre qual é a explicação mais provável em cada caso, mas não é possível fornecer uma resposta definitiva (TOLANNES *et al.*, 2020).

Entretanto, as utilidades destes testes rápidos são questionáveis já que os estudos de validação para elucidar a sensibilidade e especificidade deles levam tempo para serem executados. Além disso, mais estudos precisam ser realizados para analisar a sensibilidade e a especificidade dos testes sorológicos que estão sendo desenvolvidos ao redor do mundo (KRAMMER; SIMON, 2020; THEEL *et al.*, 2020).

3.4 Comparação das metodologias

Cada metodologia desenvolvida possui vantagens e desvantagens, maior ou menor sensibilidade e especificidade a depender do tempo em que o indivíduo está desenvolvendo a infecção. A figura 3 ilustra qual a melhor metodologia indicada, de acordo com o período de início dos sintomas e a tabela 1 lista comparações das vantagens e das desvantagens de cada teste (WANG *et al.*, 2020).

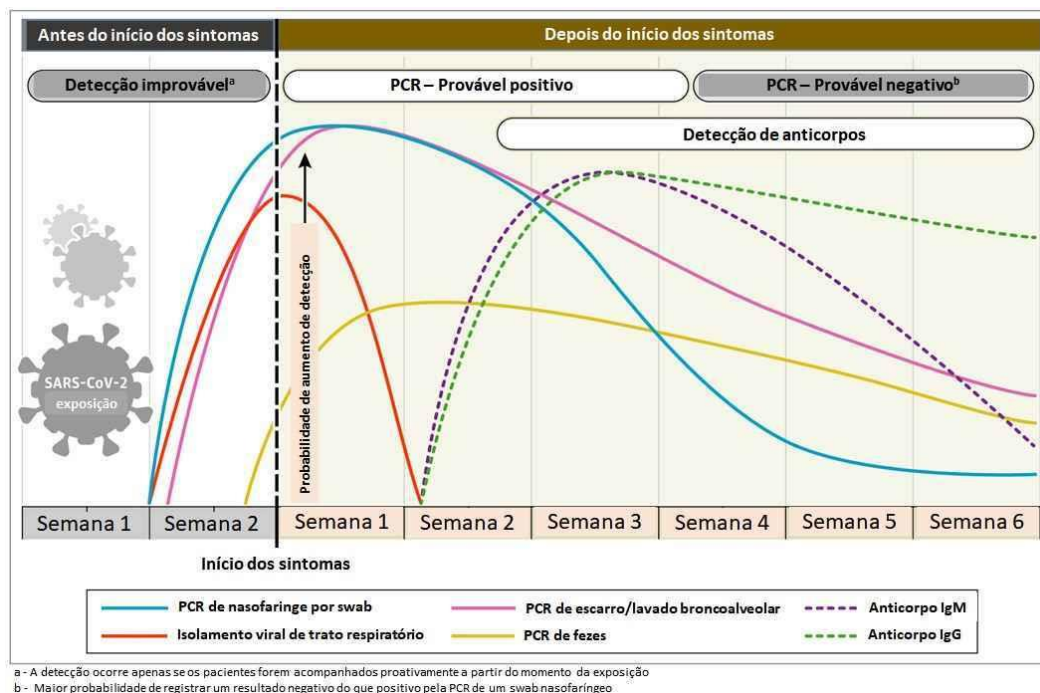


Figura 3: Método ideal de testagem de acordo com o período de início de sintomas

Fonte: Adaptado de SETHURAMAN, JEREMIAH, RYO, 2020.

Tabela 1: Comparação de vantagens e desvantagens das metodologias aplicadas para o diagnóstico de COVID-19

METODOLOGIA	VANTAGENS	DESVANTAGENS	REFERÊNCIAS
RT-PCR	Alta especificidade, padrão ouro	Alto preço, necessidade de equipamentos caros, profissionais treinados	WANG W, XU Y, GAO R <i>et al.</i> , 2020; VIEIRA, 2020
Sorologia – ELISA	Alta sensibilidade, baixo custo e de fácil operação	Utilidade limitada para diagnosticar infecção recente por Sars-CoV-2, muitas operações manuais	ZHAO, YUAN, WANG <i>et al.</i> , 2020; NAKANO, KURANO, MORITA <i>et al.</i> , 2021.
Sorologia – CLIA	Rápido, totalmente automatizado, alta sensibilidade e especificidade	Requer equipamentos de detecção especiais. Utilidade limitada para diagnosticar infecção recente por Sars-CoV-2	NAKANO, KURANO, MORITA., et al 2021.
Teste Rápido – anticorpo	Baixo preço, acessível, fácil coleta de amostra biológica e realização, resultado em minutos	Baixa sensibilidade e especificidade	BOAVENTURA, <i>et al.</i> , 2020.

Fonte: elaborado pela autora.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por ser um vírus de RNA que sofre mutações com alta frequência, o SARS-CoV-2 ainda é um vírus de impacto mundial e de importância médica e social. Apesar da quantidade de estudos, a doença ainda é nova e que traz inúmeros desafios para a ciência. Novos testes e exames estão sendo elaborados todos os dias, utilizando novas regiões do vírus como alvo de detecção e metodologias sorológicas mais sensíveis e específicas. Portanto deve se avaliar as vantagens e desvantagens da aplicação de cada tipo de testagem de acordo com as condições necessárias para cada metodologia.

Após um ano e meio de pandemia foi evidenciada a necessidade de estudos, pesquisas, e maiores investimentos nas formas de diagnóstico laboratorial relacionados a COVID-19 e seu agente etiológico SARS-CoV-2 que possam detectar com maior destreza a presença do vírus e da doença e assim diminuir as taxas de transmissão, casos e mortes. Nesse contexto, os exames de imagem, testes rápidos, e sorologia são os testes complementares mais comuns e mais utilizados pelo mundo, mas o padrão ouro para a detecção do SARS-COV-2 e diagnóstico da COVID-19 é o teste laboratorial RT-PCR.

Apesar disso, estudos demonstram que durante a doença a sensibilidade da tecnologia do RT-PCR possui tendência a decair nas amostras de *swab* nasofaringe devido à redução da carga viral nesse local, enquanto a produção de anticorpos aumenta e os testes sorológicos demonstram uma sensibilidade considerável.

Com uma boa performance de detecção, os testes sorológicos podem ser usados como diagnóstico suplementar da COVID-19 em casos suspeitos com resultado de RT-PCR negativo. Além dos estudos de sensibilidade e especificidade dos testes, o monitoramento contínuo de pacientes com anticorpos contra SARS-CoV-2 pode ajudar a entender sua produção e conversão e assim avaliar a importância do teste sorológico na prevenção e controle de epidemias. Apesar de possuir boa sensibilidade e especificidade, os testes de ELISA não estão sendo usados na prática clínica, a maioria deles estão sendo substituídos pela Quimiluminescência (CLIA).

A utilização de testes rápidos se torna uma ótima ferramenta para usar em situações e que a estrutura de um laboratório e de equipamentos específicos não seja possível. Apesar da facilidade na realização e do tempo de resultado, esses testes precisam ser aprimorados a fim de terem melhorias em sua sensibilidade e especificidade.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, N; ROUQUAYROL, M Z. **Introdução à epidemiologia moderna**. Salvador: Apce Produtos do conhecimento, 1990; Cap. III: 27-48. Acesso em: 12 Jul 2021

ANDRIOLO, A. **Manual da residência de medicina laboratorial**. Barueri, São Paulo: Editora Manole, 2019. Acesso em: 15 Jul 2021

BEECHING N.J; FLETCHER, T.E; FOWLER, R. COVID-19 Coronavirus disease 2019 (COVID-19) The right clinical information, right where it's needed . **BMJ Best Practice**. Londres, v.6 n. 368. Maio 2020. Disponível em: <
https://www.sbn.org.br/fileadmin/diversos/BMJ_Best_Practice_COVID_May_2020.pdf>
Acesso em: 12 Ago 2021

BOAVENTURA, V *et al.* **Testes diagnósticos na Covid-19..** Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais. Salvador: Edufba, 2020. v. 1. DOI: 10.9771/9786556300443.008.

BOURNER, G *et al.* ICSH guidelines for the verification and performance of automated cell counters for body fluids. **International Journal of Laboratory Hematology**. Grã- Bretanha v.36, n.6, p:598-612. Dezembro 2014. Doi: 10.1111/ijlh.12196.

CHEN, Y. *et al.* Structure analysis of the receptor binding of 2019-nCoV. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, Amsterdã, n.525, v.1, p135-140. Abr 2020. DOI: 10.1016/j.bbrc.2020.02.071.

FERGUSON N.M *et al.* Impact of non-pharmaceutical interventions (NPIs) to reduce COVID-19 mortality and healthcare demand. **Imperial College COVID-19 Response Team**. doi: 10.25561/77482.

FISCHBACH, F.T. **Exames Laboratoriais e Diagnósticos em Enfermagem**. Rio de Janeiro Grupo GEN, 2016.

GORBALENY, A.A, Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus:The species and its viruses—a statement of the Coronavirus Study Group. **Nature Microbiology**. Londres v.5, p.536–544. Mar 2020. DOI: 10.1101/2020.02.07.937862.

GROBUSCH, M.P.; HÄNSCHEID, T. Point-of-care tests: where is the point. **The Lancet Infectious diseases**, Londres n.14 v.10 p.: 922.Out 2014; Doi: 10.1016/S1473-3099(14)70914-4.

GUAN, W.J *et al.* Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **New England Journal of Medicine**, Londres, Feb 2020. Acesso em : 4 Out 2021

GUO, L , *et al.* Profiling early humoral response to diagnose novel coronavirus disease (COVID-19). **Clinical Infectious Diseases**. Estados Unidos n.71, v.15. p778-785. Jul 2020. doi: 10.1093/cid/ciaa310 1–8.

JINGYUN, H. *et al.* Comparison and application of different immunoassay methods for the detection of SARS-CoV-2. **Journal of Medical Virology**. Estados Unidos, v.92, n.11, p 2777-2784. 2020. Doi: 10.1002/jmv.26187.

HSUEH, P.R. *et al.* Chronological evolution of IgM, IgA, IgG and neutralisation antibodies after infection with SARS-associated coronavirus. **Clinical Microbiology and Infection**. Reino Unido, V.10, n.12 p.1062–1066. Fev 2020. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2004.01009.x.

KRAMMER, F; SIMON, V. Serology assays to manage COVID-19. **Science**. Estados Unidos, v.368, n.6495, p.1060-1061. Jun 2020. Doi: 10.1126/science.abc1227. 1227: 1–5.

KUMAR, K.S., *et al.* An Update on Advances in COVID-19 Laboratory Diagnosis and Testing Guidelines in India. **Infectious Disease Surveillance. Frontiers in Public Health**. Suíça, v.9 Mar 2021. Doi: org/10.3389/fpubh.2021.568603.

LAGO, M.S.D; WALTER, F.A. **Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infeciosas e Autoimunes**, 3ª edição. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2013.

LIPPI, G *et al.* Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. Alemanha, v.58, n.7, p. 1070–1076. Mar, 2020 DOI: 10.1515/cclm-2020-0285.

LIPPI, G. *et al.* Assessment of immune response to SARS-CoV-2 with fully automated maglumi 2019-nCoV IgG and IgM chemiluminescence immunoassays. **Clinical Chemistry and Laboratory Medicine**. Alemanha, v.58, n.7.Abr 2020. DOI:10.1515/cclm-2020-0473.

LIU, W. *et al.* Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 58, n. 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00461-20>.

LIN, D. *et al.* Evaluations of serological test in the diagnosis of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) infections during the COVID-19 outbreak. **Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**. Reino Unido, n.39 p.2271–2277. Jul 2020. Doi: 10.1007/s10096-020-03978-6.

LOEFFELHOLZ, M.J; TANG, Y.W. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections: the state of the art. **Emerging Microbes Infections**. Reino Unido, v30, n9 p.1–11. Mar 2020. DOI: 10.1080/22221751.2020.1745095.

MOREIRA, E., *et al.* **Em tempos de pandemia : propostas para a defesa da vida e de direitos sociais**. Rio de Janeiro 2020. Disponível em: http://www.cress-es.org.br/wp-content/uploads/2020/05/1_5028797681548394620.pdf.

NAKANO, Y., KURANO, M., MORITA, Y. *et al.* Time course of the sensitivity and specificity of anti-SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies for symptomatic COVID-19 in Japan. **Scientific Reports**. Reino Unido v.11, n.2776. 2021.Doi: 10.1038/s41598-021-82428-5.

NICOL, T. *et al.* Assessment of SARSCoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: two automated immunoassays (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). **Journal of Clinical Virology**. Países Baixos n.129, v. 104511. Ago2020. DOI: 10.1016/j.jcv.2020.104511.

OMS. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19.

Disponível em: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>. Acesso em: 12 set 2021

PAN, Y. *et al.* Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. **Journal of Infection**. Reino Unido, v.81 n.1 p. e28-e32. Abr 2020. doi: 10.1016/j.jinf.2020.03.051.

ROTHER, E.T; Revisão sistemática x Revisão narrativa. **Acta Paulista de Enfermagem** v.20 n.2 p 5-7. São Paulo, 2007. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=307026613004>. Acesso em: 30 Nov 2020

RUCH, T.R; MACHAMER, C.E; The coronavirus E protein: assembly and beyond. **Viruses**. Estados Unidos, v.4 n.3 p.363–382. Mar 2012. DOI: <https://doi.org/10.3390/v4030363>.

SETHURAM, N; JEREMIAH S.S, RYO, A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. **Journal of the American Medical Association**. Estados Unidos, v.323, n.22 p.2249-2251, Jun 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.825.

TAY, M.Z, *et al.* The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. **Nature Reviews Immunology**. Reino Unido, n.20, v.6 p:363-74. 2020. DOI: 10.1038/s41577-020-0311-8.

THEEL, E.S *et al.* the role of antibody testing for SARS-CoV-2: is there one? **Journal of Clinical Microbiology**. Washington, n.58 v.8e00797-20 Jul 2020. Doi: 10.1128/JCM.00797-20.

THREE, C; *et al.* Antibody responses to SARS-CoV-2 in COVID-19 patients: the perspective application of serological tests in clinical practice. **Nature Medicine**. Reino Unido n.26, v.6, p.845-848. Abr 2020. doi: 10.1038/s41591-020-0897-1.

TOLLANES, M *et al.* Evaluation of eleven rapid tests for detection of antibodies against SARS-CoV-2. **Journal Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)**. Alemanha n.58, v.9 p. 1595-1600. Jun 2020 Doi: 10.1515/cclm-2020-0628.

VIEIRA, L.M.F; EMERY, E; ADRIOLO, A. **COVID-19 - Diagnóstico Laboratorial para Clínicos**. Health Science. Mai 2020. DOI: 10.1590/SciELOPreprints.411.

YONGCHEN, Z *et al.* Different longitudinal patterns of nucleic acid and serology testing results based on disease severity of COVID-19 patients. **Emerging Microbes Infections** Reino Unido, n.9, v.1, p. 833-836, dez 2020. Doi: 10.1080/22221751.2020.1756699.

WOLFF, F., *et al.* Monitoring antibody response following SARS-CoV-2 infection: diagnostic efficiency of 4 automated immunoassays, Monitoring antibody response following SARS-CoV-2 infection: diagnostic efficiency of 4 automated immunoassays, **Diagnostic of Microbiology and Infections**. Desases. Reino Unido n.98 v.3 p:115140. Jul 2020. Doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2020.115140.

ZHANG, J.J; DONG, X; CAO, Y *et al.* Clinical characteristics of 140 patients infected with SARS-CoV-2 in Wuhan, China. **Allergy**. Estados Unidos, v.5 n.7 p:1730-174, jul 2020. Doi: 10.1111/all.14238

ZHANG W, *et al.* Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. **Emerging Microbes Infections**. Reino Unido n.17 v.9, p. 386–389. Fev 2020. Doi : 10.1080/22221751.2020.1729071.

ZHANG, P *et al.* Association of inpatient use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin ii receptor blockers with mortality among patients with hypertension hospitalized with COVID-19. **Circulation Research**. Estados Unidos, n.126, v.12, p:1671-81. Doi: 10.1161/CIRCRESAHA.120.317134.

ZHAO, J ; YUAN, Q; WANG, H., *et al.* Antibody responses to SARSCoV- 2 in patients of novel coronavirus disease 2019. **Clinical Infectious Diseases**. Inglaterra , v.71, n. 16, 15 October 2020, p 2027–2034. Doi: 10.1093/cid/ciaa344.