



## MÉTODOS LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DO SARS-CoV-2

**SANTOS, Carolina Kupper** <sup>1</sup>

Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva-FAIT

**COLTURATO, Pedro Luís** <sup>2</sup>

Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva-FAIT

### RESUMO

A COVID-19 (coronavírus 2019) é uma doença infecciosa causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2) que teve início na cidade de Wuhan e se espalhou pelo mundo todo. A COVID-19 é transmitido principalmente de pessoa para pessoa através de gotículas transportadas pelo ar, que são provenientes da tosse ou dos espirros de uma pessoa infectada. Com a infecção pelo SARS-Cov-2 alastrando-se pelo mundo, de forma pandêmica, a demanda por testes diagnósticos aumentou exponencialmente. Portanto, o objetivo desse artigo de revisão é buscar na literatura os diferentes métodos laboratoriais para o diagnóstico da COVID-19 e sua eficácia. O teste mais utilizado para confirmação diagnóstica de casos suspeitos na atualidade é o teste RT-PCR (do inglês reverse-transcriptase polymerase chain reaction), sendo considerado o padrão-ouro no diagnóstico da COVID-19. Com a doença se alastrando, foram desenvolvidos testes rápidos que avaliam o IgG e IgM através de métodos de ensaios imunoenzimáticos ou quimioluminescência) ou testes rápidos imunocromatográficos. É importante salientar que novos estudos estão sendo desenvolvidos e investigados para a detecção de antígenos virais e amplificação de partículas, com alta sensibilidade e maior escalabilidade em relação ao RT-PCR. Após a análise dos métodos foi possível concluir que todos são eficazes desde que sejam colhidos de forma correta e no tempo indicado. A linha de pesquisa utilizada para elaboração do artigo é Análises Clínicas, Genéticas e Toxicológicas

**Palavras-chave:** COVID-19, Métodos Laboratoriais, Testes diagnósticos.

### ABSTRACT

COVID-19 (coronavirus 2019) is an infectious disease caused by the new coronavirus (SARS-CoV-2) that started in the city of Wuhan and has spread worldwide. COVID-19 is transmitted mainly from person to person through airborne droplets, which come from an infected person's coughing or sneezing. With SARS-Cov-2 infection spreading worldwide, in a pandemic way, the demand for diagnostic tests has increased exponentially. Therefore, the purpose of this review article is to search the literature for different laboratory methods for the diagnosis of COVID-19 and its effectiveness. The most used test for diagnostic confirmation of suspected cases today is the RT-PCR test (reverse-transcriptase polymerase chain reaction), being considered the gold standard in the diagnosis of COVID-19. With the disease spreading, rapid tests were developed to evaluate IgG and IgM using immunoenzymatic assays or chemiluminescence tests) or rapid immunochromatographic tests. It is important to note that new studies are being developed and investigated for the detection of viral antigens and amplification of particles, with high sensitivity and greater scalability in relation to RT-PCR. After analyzing the methods, it was possible to conclude that all are effective as long as they are harvested correctly and in the indicated time. The line of research used to prepare the article is Clinical, Genetic and Toxicological Analysis

**Keywords:** COVID-19, Laboratory Methods, Diagnostic tests.

### 1. INTRODUÇÃO

REVISTA CIENTÍFICA ELETRÔNICA DE CIÊNCIAS APLICADAS DA FAIT. n. 2. Novembro, 2020.



De acordo com Organização Mundial da Saúde (2020), SARS-CoV-2 (novo Coronavírus), é o agente etiológico da doença COVID-19, que teve início no final de 2019 em Wuhan, na China, e se propagou por todo o mundo, tendo sido declarada como pandemia no dia 11 de março de 2020 (PELLEGRINO, 2020).

A identificação foi feita pelo cultivo do vírus retirado amostra dos seios nasais. Em seguida, foi identificado como o agente responsável pela doença um novo tipo de coronavírus, o SARS-CoV-2 que pertence à família *Coronaviridae*, esse vírus causa uma doença respiratória (UDUGAMA et al., 2020).

*Coronaviridae* compreende uma grande família, sendo que pelo menos sete dentre os coronavírus são bastante conhecidos por causarem doenças respiratórias em humanos. Os coronavírus têm a capacidade de infectar praticamente todos os principais grupos de animais, sendo que alguns dos que hospedam outras espécies podem passar a contaminar humanos. O entendimento atual é que o SARS-CoV-2 é o terceiro coronavírus zoonótico a transpor a barreira entre espécies e se tornar capaz de infectar humanos, nas duas últimas décadas (VIEIRA et al. 2020).

As primeiras infecções pelo COVID-19 foram relacionadas a um mercado de animais vivos em Wuhan, China, sugerindo que o vírus foi transmitido por animais que estavam sendo vendidos como alimentos exóticos para os seres humanos. O COVID-19 é transmitido principalmente de pessoa para pessoa através de gotículas transportadas pelo ar, que são provenientes da tosse ou dos espirros de uma pessoa infectada. As pessoas também podem contrair uma infecção pelo COVID-19 ao tocar algo que tenha o vírus e depois tocar sua própria boca, nariz ou olhos (TESINI, 2020).

De acordo com o Protocolo de Manejo Clínico para o Novo Coronavírus, publicado pelo Ministério da Saúde (2020), na avaliação dos primeiros 99 pacientes internados com pneumonia e diagnóstico laboratorial de COVID-19 no hospital de Wuhan observou-se uma maior taxa de hospitalização em maiores de 50 anos e do sexo masculino. Os principais sintomas foram febre (83%), tosse (82%), dispneia (31%), mialgia (11%), confusão mental (9%), cefaleia (8%), dor de garganta (5%), rinorreia (4%), dor torácica (2%), diarreia (2%) e náuseas e vômitos (1%).



Com a infecção pelo SARS-Cov-2 alastrando-se pelo mundo, de forma pandêmica, a demanda por testes diagnósticos aumentou exponencialmente. Depois do repto da Organização Mundial da Saúde (OMS), lançado em 16/3/2020, para que os países-membros intensificassem a testagem para a identificação do vírus da COVID 19, a corrida aos testes disparou (PETRAMALE, 2020).

As técnicas de diagnóstico laboratorial para identificação do vírus SARS-Cov-2, são essenciais para calcular as taxas precisas de infecção e sobrevivência dados importantes para acertar as medidas de segurança pública. No entanto, ainda não existe consenso entre os especialistas nas definições de caso e critérios clínicos para avaliação diagnóstica no COVID-19, contudo, se faz necessária uma avaliação clínica e laboratorial (MARINELLI et al., 2020).

Os testes Laboratoriais para detecção de SARS-CoV-2 podem ser classificados como: testes de biologia molecular (RT-PCR, que detectam RNA viral), testes de antígeno que detectam proteínas, tais como proteínas da superfície do vírus na fase de atividade da infecção, testes sorológicos que detectam anticorpos (IgA, IgG, IgM) produzidos como resposta do organismo à infecção pelo vírus (MAGALHÃES, 2020).

Para Xavier et al. (2020), o laboratório clínico é uma ferramenta importante e essencial para o diagnóstico, o acompanhamento e a evolução, bem como para o prognóstico de qualquer patologia ativa ou não. Na pandemia de COVID-19, foi relatado o envolvimento de vários biomarcadores como indicadores do estado atual da doença, enquanto outros provaram serem marcadores prognósticos úteis.

Perante todo esse cenário, o objetivo desse artigo de revisão é buscar na literatura os diferentes métodos laboratoriais para o diagnóstico da COVID-19.

O método utilizado para a realização desse trabalho foi revisão da literatura, onde foram realizadas pesquisas bibliográficas, visando informar ao leitor os métodos para a identificação do SARS-Cov-2.

A coleta de dados foi efetuada através de bases de dados como PubMed, SciELO, Google Acadêmico e CAPES. Para selecionar os artigos, foram utilizadas palavras chaves como COVID-19, Diagnóstico COVID-19, Exames laboratoriais COVID-19. A pesquisa resultou em trinta artigos, que foram selecionados e



analisados uma a uma, por fim apenas vinte considerados relevantes ao tema foram escolhidos.

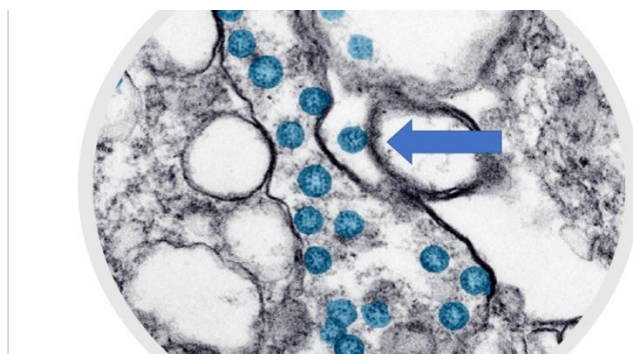
## 2. DESENVOLVIMENTO

Os coronavírus (CoVs) são vírus envelopados com diâmetro de 60 a 130 nm que contêm um genoma de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples de sentido positivo, com tamanho variando de 26 a 32 kilobases (Kb) de comprimento (SCHOEMAN; CASCELLA apud XAVIER 2020).

Segundo Udugama et., al (2020), o SARS-CoV-2 foi identificado pela primeira vez em amostras de pacientes em Wuhan, China. As células epiteliais das vias respiratórias humanas foram cultivadas com o vírus do fluido BAL isolado de pacientes. O sobrenadante foi coletado de células que foram danificadas ou mortas e analisadas por microscopia eletrônica de transmissão com coloração negativa. As imagens revelaram que o vírus tem diâmetro que varia de 60 a 140 nm, envelope com pontas de proteínas e material genético. A estrutura geral é semelhante a outros vírus da família Coronaviridae.

Na figura a seguir é possível notar a imagem microscópica eletrônica de transmissão do primeiro caso americano de COVID-19. Os fragmentos virais esféricos, realçados em azul, contêm seções transversas do genoma viral, notadas como pontos pretos.

Figura 1 - Morfologia SARS-CoV-2



Fonte: Biblioteca de Imagens de saúde Pública (PHIL).

Pachito et al. (2020) diz que o escalonamento do número de casos da Covid-19 no Brasil impõe desafios ao sistema de saúde, como a escolha das

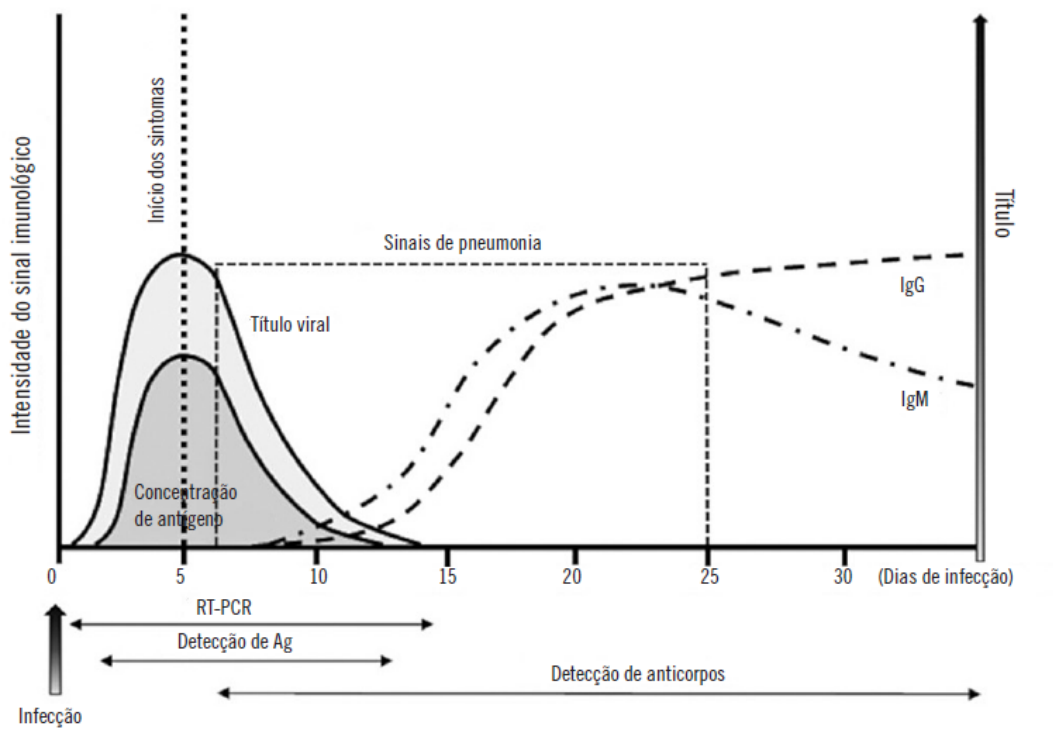


melhores práticas para o diagnóstico e manejo dos casos, a fim de garantir a eficiência do sistema. Um dos pontos críticos neste cenário é a disponibilização de testes diagnósticos que sejam rápidos e acurados e que possam ser empregados para confirmação de casos suspeitos, rastreamento de população de risco e para avaliação epidemiológica em nível populacional.

Para o Ministério da Saúde (BRASIL, 2020), o teste mais utilizado para confirmação diagnóstica de casos suspeitos na atualidade é o teste RTPCR (Real Time Reverse-transcriptase Polymerase Chain Reaction), que amplifica sequências de RNA do vírus, possibilitando sua identificação.

Na figura 2, é possível observar a resposta imunológica do organismo desde o início dos sintomas, e qual o método de diagnóstico mais indicado em relação ao período dos sintomas.

Figura 2: Evolução clínica e laboratorial da COVID-19.



Fonte: Xavier; et al.(2020)

Conforme a imagem, é possível verificar que a concentração do antígeno vai estar presente no organismo de 1 dia até 13 dias, portanto a concentração maior de carga viral vai ser no 5º dia, fase em que o teste RT-PCR é recomendado para detecção.



Entretanto o RT-PCR apresenta limitações em relação à sensibilidade do teste quando utilizadas amostras com baixa carga viral e desvantagens, tais como o tempo necessário entre a coleta e a disponibilização do resultado, assim como a necessidade de estrutura física especializada e equipe técnica qualificada (UDUGAMA et.al, 2020).

De 7 até 30 dias, ocorre a produção dos anticorpos, os níveis se elevam atingindo o pico no 25º dia, através dos resultados do IgG e IgM associados a sintomas clínicos, é possível detectar a presença do vírus, pois o IgM é o anticorpo que dá a resposta aguda para combater o vírus, enquanto o IgG é uma célula memória que prepara o organismo se houver uma nova exposição.

Encontramos na rotina laboratorial mais dois tipos de testes usados para o diagnóstico epidemiológico da Covid-19, os chamados testes rápidos: de antígeno (que detectam proteínas virais da fase aguda, início do processo infeccioso) e os de anticorpos (que identificam a presença da imunoglobulina IgA, IgM ou IgG na corrente sanguínea). A vantagem desses testes seria a obtenção de resultados rápidos para a decisão da conduta. No entanto, a maioria dos testes rápidos possuem sensibilidade e especificidade muito reduzidas em comparação as outras metodologias. (BRASIL, 2020).

Segundo Dias et., al (2020), os testes sorológicos visam detectar anticorpos que foram liberados contra os antígenos do SARS-CoV-2 IgG, IgM e IgA e totais podem ser detectados em sangue total, soro ou plasma por testes convencionais (ensaios imunoenzimáticos ou quimioluminescência) ou testes rápidos imunocromatográficos. A acurácia dos testes sorológicos varia por metodologia, antígeno empregado no momento da coleta (idealmente após 10º dia para IgM, IgA e anticorpos totais e após 15º dias para IgG).

Os estudos apresentados a seguir, comparam resultados com o teste RTPCR, para isso avaliaram (i) a acurácia diagnóstica de testes sorológicos, (ii) acurácia de técnicas de amplificação de moléculas virais e/ou de detecção de antígenos virais ou (iii) estratégias para a coleta de amostras para os testes de replicação viral (PACHITO et al., 2020).

Quadro 1: Estudos avaliando a acurácia diagnóstica da avaliação sorológica e amplificação de partículas virais.



Autor	Número de participantes	Metodologia utilizada	Resultado
Cassaniti (2020)	110 participantes com Covid-19 confirmada ou suspeita.	Teste rápido sorológico por IEFL (imunoensaio de fluxo lateral).	Participantes internados sensibilidade (83,3%), especificidade (100%). Participantes do pronto-atendimento sensibilidade (18,4%), especificidade (91,7%).
Jin (2020)	76 participantes com Covid-19 confirmada e com outros diagnósticos.	Método CLIA Imunoensaios por quimioluminescência comparando com os resultados de RT-PCR swab oral ou escarro.	Sensibilidade IgM (48,1%), sensibilidade IgG (88,9%). Especificidade IgM (100%), especificidade IgG (90,9%).
Liu (2020)	238 participantes e 50 doadores saudáveis.	Avaliação sorológica pelo método ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática).	Sensibilidade (81,5%), Especificidade IgM (99,97%).
Yan et al. (2020)	130 amostras pacientes suspeito de SARS-CoV-2.	RT-LAMP Amostras de swab nasal e lavado broncoalveolar.	58 positivos e 72 negativos. Sensibilidade 100% (IC95% 92,3% e 100%) Especificidade 100% (IC95% 93,7% e 100%) Tempo médio de detecção 26,28 +/- 4,48 min.
Pasomsub et al. (2020)	200 pacientes com COVID-19.	Amostras de saliva e de swab de orofaringe RT-PCR.	Amostra de saliva foram 84,2% (IC95% 60,4%-96,6%) e 98,9% (IC95% 96,1%-99,9%).
Wang (2020)	16 pacientes internados com Covid-19 confirmado.	Acurácia da técnica de NPS (nanopore target sequencing).	NTS, sensibilidade (100%), RT-PCR, sensibilidade (56,3%).
Cai (2020)	276 participantes internados com Covid-19, 167 voluntários com outras infecções respiratórias e 200 participantes saudáveis.	Método MCLIA (magnetic chemiluminescence enzyme immunoassay) IgG, IgM,	Sensibilidade IgG (71,4%), especificidade IgG (100%), sensibilidade IgM (57,2%), especificidade IgM (100%), sensibilidade IgG-IgM (81,5%), especificidade IgG-IgM

Fonte: PACHITO et al., 2020

Analisando o quadro 1 é possível concluir que comparando diferentes métodos para avaliação sorológica, como ELISA ou testes rápidos, os resultados são inconsistentes, com alguns resultados favorecendo o método ELISA e outros



favorecendo os métodos rápidos aplicados como point of care. A sensibilidade do teste ELISA variou entre 65 a 90% e a sensibilidade dos testes rápidos variou entre 82,4 a 90%. Nestes estudos, a especificidade encontrada foi de 100% para ambas as modalidades. Dados evidenciaram que o swab de faringe apresenta uma maior taxa de resultados positivos (PACHITO et al., 2020).

Ainda analisando o quadro 1, verifica-se que os testes imunocromatográficos, são rápidos e de fácil realização pois não dependem de equipamento laboratorial, porém deve ser coletado e interpretado por um profissional experiente e sob a supervisão de um laboratório habilitado para que não haja interpretações duvidosas.

Em relação ao RT-PCR, é importante que a amostra seja colhida de forma correta e em quantidade suficiente para uma boa análise, um resultado negativo não exclui a possibilidade de infecção se o início dos sintomas não foi relatado corretamente pelo paciente.

De acordo com Pachito et al. (2020), foram identificados seis estudos em andamento potencialmente elegíveis, investigando testes sorológicos, testes de amplificação de partículas virais e novos métodos de diagnóstico, tais como teste respiratório com cromatografia gasosa.

### **3. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conclui-se através dos estudos apresentados que há diferentes técnicas para o diagnóstico do Sars-Cov-2, porém o método mais eficaz é o RT-PCR desde que seja colhido de maneira correta por um profissional qualificado e no tempo correto. Testes rápidos baseados em detecção de antígenos virais e de anticorpos (IgA, IgM e IgG), também revelam ser bastante eficientes quando testados em fase mais tardia da evolução do vírus. É importante salientar que novos estudos estão sendo desenvolvidos e investigados para a detecção de antígenos virais e amplificação de partículas, com alta sensibilidade e maior escalabilidade em relação ao RT-PCR.

### **4. REFERÊNCIAS**





BRASIL; Ministério da Saúde. Protocolo de manejo clínico do coronavírus (COVID-19) na atenção primária à saúde. **Secretaria de Atenção Primária à Saúde (SAPS)**, 2020.

BRASIL; Ministério da Saúde. Nota técnica covid-19. **Orientações aos hospitais universitários federais da rede ebserh a respeito do manejo propedêutico da infecção pelo sars-cov-2**. Brasília, 2020.

CAI X, Chen J, Hu J, et al. **Um imunoenensaio enzimático de quimioluminescência magnética baseada em peptídeo para diagnóstico sorológico de doença do vírus corona 2019 (COVID-19)**. Disponível em <<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.22.20026617v1>> Acesso em 20 de setembro de 2020.

CASSANITI I, NOVAZZI F, GIARDINA F, et al. O desempenho do Teste Rápido VivaDiag COVID-19 IgM / IgG é inadequado para o diagnóstico de COVID-19 em pacientes agudos encaminhados para o pronto-socorro. **J Med Virol**, vol.1, n.4, 2020.

DIAS, V.M. de C.H; et al. Testes sorológicos para COVID-19: Interpretação e aplicações práticas. **Diário Oficial da Associação Brasileira dos Profissionais de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar**, vol.9, n.2, 2020.

JIN Y, WANG M, ZUO Z, et al. Valor diagnóstico e variação dinâmica do anticorpo sérico na doença coronavírus 2019. **International Journal of Infectious Diseases**, vol.94, p.49-52, 2020.

LIBRARY, Public Health Image. **Centros de Controle e Prevenção de Doenças, Detalhes no COVID-19**. Disponível em <<https://phil.cdc.gov/Details.aspx?pid=23354>>. Acesso em set. 2020.

LIU L, LIU W, WANG S, ZHENG S. Um estudo preliminar sobre ensaio sorológico para síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 (SARS-CoV-2) em 238 pacientes hospitalizados. **Micróbios e infecção**, vol.22, n.4-5, p.206-211, 2020.

MAGALHÃES, S. SARS-CoV-2: Diagnóstico Laboratorial. **Acta Farmacêutica Portuguesa**, vol. 9, n.1, pp.32-37, 2020.

MARINELLI N,P; ALBUQUERQUE L.P.A, SOUSA I.D.B. Protocolo de manejo clínico do COVID-19: por que tantas mudanças? **Revista Cuidarte**, vol.11, n.2, 2020.



PACHITO DV, et al. **Testes diagnósticos para Covid-19. Síntese de evidência.** Disponível em <<https://oxfordbrazilebm.com/index.php/2020/05/08/testes-diagnosticos-covid-19/>> Acesso em agosto de 2020.

PASOMSUB E; et al. Amostra de saliva como espécime não invasivo para o diagnóstico da doença coronavírus-2019 (COVID-19): um estudo transversal. **Microbiologia Clínica e Infecção**, 2020.

PELLEGRINO, Flávia Lúcia Piffano Costa. COVID-19, A pandemia de 2020: Origem, agente etiológico, transmissão, manifestações clínicas. **Acta Scientiae et Technicae**, vol.8, n.1, 2020.

PETRAMALE, C.A. Testes diagnósticos para a identificação do vírus SARS-CoV-2 e para o diagnóstico da COVID -19. **Nota Técnica**, 2020.

TESINI, B.L. Coronavírus e Síndromes respiratórias agudas (COVID-19, MERS e SARS). **MANUAL MSD Versão Saúde para a Família**, 2020.

UDUGAMA B, KADHIRESAN P, KOZLOWSKI HN; et al. Diagnosticando COVID-19: A doença e ferramentas para detecção. **ACS Nano**, vol.14, n.4, p.3822-3835, 2020.

VIEIRA, L.M.F; Emery E, Andriolo A. COVID-19 – Diagnóstico laboratorial para os clínicos/COVID-19 (artigo de atualização). **Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo**, São Paulo, 2020.

WANG W, XU Y, GAO R, et al. Detecção de SARS-CoV-2 em diferentes tipos de espécimes clínicos. **Associação Jama Med**, vol.323, n.18, 2020.

XAVIER, A.L; et al. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, pag.1-9, 2020.

YAN C; CUI J; HUANG L; et al. Detecção rápida e visual de novo coronavírus 2019 (SARSCoV-2) por um ensaio de amplificação isotérmica mediado por loop de transcrição reversa. **Clinical Microbiology and Infection**, vol.26, pag.773-779, 2020.



Sociedade Cultural e Educacional de Itapeva  
Faculdade de Ciências Sociais e Agrárias de Itapeva - FAIT

*Revista Científica Eletrônica de Ciências Aplicadas da FAIT*

ISSN 1806-6933