

Acurácia do Diagnóstico laboratorial do vírus SARS-CoV-2.

Guilherme Ferreira Fernandes^{1*}, Ellen de Oliveira Nabuco², Yonara de Alencar Jordão dos Santos³, Sandra Marlise Theis⁴, Luana Mayevsky Pereira da Silva⁵, Valéria Ferreira⁶

¹Acadêmico do Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: guilhermefernandesjp@hotmail.com

²Acadêmica do Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: ellenoliveira8888@gmail.com

³Acadêmica do Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: yonara_jordao@hotmail.com

⁴Acadêmica do Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: theis_ms@hotmail.com

⁵Acadêmica do Curso de Biomedicina, Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná - UniSL, Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: luana.mayevsky@gmail.com

⁶Docente do Centro Universitário São Lucas Ji-Paraná-UniSL – Ji-Paraná, RO, Brasil. Email: valeria.ferreira@saolucasjiparana.edu.br

1. Introdução

Em primeiro plano, convém mencionar que as doenças virais correspondem a patologias ocasionadas por vírus, as quais acometem grande parte da população todos os anos, podendo se manifestar de forma menos agressiva, como é o caso dos resfriados, ou em casos mais complexos como a Covid-19, ou, ainda, podem ser incuráveis como é o caso da síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS). Os vírus, por sua vez, correspondem a organismos acelulares, não vivos, os quais são classificados como parasitas intracelulares obrigatórios. Esses organismos podem ocasionar complicações distintas, sendo que quanto mais rápido for o diagnóstico melhor e mais preciso será a terapêutica e prognóstico do paciente (DIAS, 2020).

Destarte, é indubitável que os avanços científicos, especialmente no campo da biotecnologia, foram de suma importância para o desenvolvimento e aperfeiçoamento das técnicas empregadas no diagnóstico viral, especialmente neste cenário pandêmico, o qual instigou, nitidamente, a criação de novos métodos e, também, o aprimoramento das metodologias antigas garantindo, dessa forma, melhor eficiência frente ao diagnóstico da Covid-19 (DIAS, 2020).

Ademais, vale ressaltar que, o coronavírus, também chamado de SARS-CoV-2 pertence à ordem dos *Nidovirales*, originário da família *Coronaviridae*, cuja subfamília consiste na *Orthocoronavirinae* e o gênero compreende aos *Betacoronavírus*. Esse vírus apresenta uma fita simples de RNA (ácido ribonucleico) com sentido positivo, sendo responsável por causar a patologia denominada de Covid-19, a qual é, atualmente, classificada como uma síndrome respiratória aguda grave, pois promove uma série de sinais e sintomas respiratórios decorrentes da infecção viral (XAVIER, 2020).

Outrossim, segundo registros, o SARS-CoV já havia surgido em meio a sociedade em novembro de 2002 na China, onde também apresentou alta capacidade de contágio, logo, em poucos meses, o mesmo se disseminou pelo mundo sendo, porém, rapidamente controlado. Com isso, no final de 2019, e início de 2020, surgiu o SARS-CoV-2 fruto de uma mutação, a qual causou um grande colapso na saúde em escala global, pois, por se tratar de um vírus relativamente novo, não havia vacina que atuasse contra o mesmo (XAVIER, 2020).

Levando-se em consideração os aspectos supracitados, pode-se dizer que o presente resumo tem como principal objetivo elucidar a problemática em questão, de forma a analisar os métodos diagnósticos mais efetivos no que tange a detecção do SARS-CoV-2, visto que a disseminação desse vírus ocorre rapidamente acarretando, assim, em um alto grau de contágio que, por sua vez, corrobora para o desequilíbrio no âmbito da saúde, economia e demais esferas da sociedade. A mercê da atual conjuntura, a população deve, pois, obter o conhecimento necessário em relação aos mecanismos de identificação viral, para que, assim, haja maiores informações sobre as medidas que devem ser tomadas em relação à patologia (PAVÃO, 2020).

2. Materiais e métodos

O presente trabalho, trata-se de uma pesquisa de revisão bibliográfica de caráter integrativa, a qual foi embasada na literatura científica disposta em artigos e publicações disponíveis em português e inglês, as quais são provenientes das principais bases de dados eletrônicas. A pesquisa para a estruturação teórica do resumo foi realizada, de forma completa e gratuita, em plataformas on-line, tais como: Scielo (Scientific Electronic Library Online), PubMed, Arca (Repositório Institucional da Fiocruz), BVS (Biblioteca Virtual em saúde) e Google Acadêmico.

Para a obtenção dos dados deste estudo, foi realizada uma análise qualitativa de, aproximadamente, 30 trabalhos publicados em livros e revistas de cunho científico ao longo dos últimos anos, sendo, pois, selecionados apenas 15 dentre os mesmos. Ademais, para a seleção dos títulos de interesse, foram utilizados os termos: SARS-CoV-2, Coronavírus e Covid-19, os quais foram, devidamente, validado pelo (DeCS) Descritores em ciências da saúde, encontrados nos bancos de dados.

3. Resultados e Discussões

Desde o início da pandemia, o diagnóstico do SARS-CoV-2 tem se mostrado desafiador, pois diversos fatores podem dificultar a detecção do mesmo. Segundo Magno, et al. (2020), dentre os principais aspectos que podem influenciar na detecção do vírus estão: o tipo de amostra utilizada (sangue total, soro, plasma, *swab* de orofaringe e/ou nasofaringe) tempo ideal da infecção, metodologia utilizada (imunoenaios, métodos virológicos e de biologia molecular), e a acurácia do teste empregado na identificação do marcador viral (VERÍSSIMO et al, 2020).

Quanto ao tipo de amostra, alguns estudos sugerem que a positividade de carga viral pode oscilar dependendo do fluido analisado, sendo que, secreções como a saliva e o muco nasal, apresentam uma concentração de marcador viral superior quando comparadas ao muco faríngeo. Outras pesquisas, tal como as de Wang Wenling, et al. (2020), apontam que o líquido proveniente da lavagem broncoalveolar, corresponda a cerca de 93% de positividade, enquanto o escarro, proveniente da expectoração, apresenta cerca de 72%, seguido pelas secreções nasais por *swab* (63%), *swabs* faríngeos (32%), fezes (29%) e sangue (1%).

Já no que diz respeito aos testes mais utilizados durante a pandemia destacam-se os ensaios imunocromatográficos, os testes sorológicos (imunoensaio enzimático, eletroquimioluminescência e quimioluminescência) e o RT-PCR (Transcrição Reversa seguida

de Reação em Cadeia da Polimerase). Os ensaios imunocromatográficos, conhecidos popularmente como testes rápidos (TR), foram amplamente utilizados como forma de testagem em massa, pois além da acessibilidade, os mesmos viabilizam a identificação do resultado em até 15 minutos. O mecanismo biológico empregado nessa metodologia, é baseado na imunocromatografia de fluxo lateral (LFIA), que possibilita a detecção qualitativa de anticorpos por meio de amostras de soro, sangue total e plasma. Esses anticorpos podem ser imunoglobulinas M (IgM), as quais estão presentes na fase aguda da doença, ou imunoglobulinas G (IgG) em fases mais avançadas. Embora esse método seja de fácil execução, baixo custo, e boa especificidade (94-98% para IgM e 97-98% para IgG), o mesmo apresenta um nível de sensibilidade reduzido (85-10% para IgM e 95-100% para IgG), quando comparado ao RT-PCR o que, por sua vez, corrobora para que essa ferramenta sofra alterações, as quais variam de acordo com a intensidade e tempo da resposta imunológica, tendo em vista a oscilação no aparecimento dos anticorpos, dependendo de cada organismo. Dessa forma, um resultado negativo para o vírus, por meio dessa técnica, não eliminar, totalmente, a possibilidade de infecção, principalmente se a testagem for realizada entre 7 a 10 dias após o surgimento dos sintomas. Além disso, vale mencionar que a positividade para o SARS-CoV-2, também não se constitui como um parâmetro definitivo na determinação da infecção viral (DIGITS, 2020; VERÍSSIMO et al., 2020).

O imunoensaio enzimático (ELISA), por sua vez, corresponde a um tipo de teste sorológico que, assim como o TR, também apresenta boa especificidade, rapidez no resultado, baixo custo e sensibilidade reduzida. Em contrapartida, observa-se que seu mecanismo de detecção consiste na identificação semiquantitativa de imunoglobulinas IgA e IgG por meio do plasma ou soro, de forma a complementar o diagnóstico, por meio da constatação direta do patógeno (EUROIMMUN, 2020; DIGITIS, 2020).

A eletroquimioluminescência (ECLIA) concerne à uma metodologia na qual há a emissão de luz originada a partir da aplicação de potenciais de redução ou oxidação a um eletrodo que se encontra imerso em uma solução química, com moléculas capazes de emitir radiação. Por meio dessa técnica, tem-se a identificação quantitativa dos anticorpos totais, porém sem a diferenciação dos mesmos. Estima-se que a especificidade e sensibilidade desse método corresponda a 97% após o período de 14 dias desde o início dos sintomas, antes desse período os valores podem não apresentar grande fidedignidade (TOMITA E BULHÕES, s.d; FLEURY, s.d).

Analogamente à ECLIA, a quimioluminescência (CLIA) corresponde a um método de diagnóstico laboratorial que também se baseia na emissão de luz, entretanto, nesse caso, essa emissão ocorre em detrimento de reações químicas, as quais permitem a determinação quantitativa de imunoglobulinas IgM e IgG contra o vírus. O material utilizado compreende ao soro e o resultado obtido, por meio dessa metodologia, demora cerca de dois dias, sendo que, o mesmo, pode ser utilizado como um coadjuvante em casos de PCR negativa, onde a suspeita de infecção ainda se mantém. Esse método não apresenta grande relevância nos primeiros 7 dias da infecção sendo que, sua sensibilidade pode apresentar variações a partir da segunda semana. Além disso, a cinética de formação das imunoglobulinas, em pacientes com sintomas leves ou assintomáticos, não é bem estabelecida, podendo apresentar valores negativos mesmo em casos de positividade confirmados pela PCR. Entretanto, segundo

estudos realizados por Guo et al. (2020), a combinação entre o teste de PCR com o método ELISA, pode aumentar em até 51,9% a detecção da positividade, mesmo no período inicial da doença (DIGITS, 2020; GUO et al., 2020).

Por fim, e não menos importante, pode-se ainda mencionar o RT-PCR, o qual é considerado o padrão ouro para o diagnóstico do SARS-CoV-2, pois é utilizado como teste confirmatório. Esse método apresenta especificidade e sensibilidade de aproximadamente 100% sendo, pois, baseado em princípios moleculares, os quais são realizados a partir da detecção de uma molécula de material genético do vírus, o qual corresponde ao RNA (DIGITS, 2020; FLEURY, s.d).

O RNA viral pode ser encontrado em diversos fluidos corporais, sendo que as amostras, comumente utilizadas nesse teste, concernem, primordialmente, as secreções proveniente do trato respiratório superior (orofaringe e nasofaringe) ou inferior (escarro, aspirado traqueal ou fluido de lavagem broncoalveolar). Embora esse teste seja extremamente específico e sensível, o mesmo apresenta algumas limitações, dentre elas se destacam: alta complexidade técnica, infraestrutura e nível de biossegurança elevados, maior custo, positividade entre 4 a 8 dias após o início da sintomatologia e negatividade após 14 dias (PAN et al., 2020; DIGITS, 2020).

4. Considerações finais

Destarte, mediante os aspectos supracitados pode-se dizer que o diagnóstico do SARS-CoV-2 foi, e continua sendo, um dos maiores entraves do presente tempo, pois a escolha da metodologia de testagem não é algo estático, haja vista que a mesma abrange uma série de questões as quais devem ser cuidadosamente analisadas e estudadas, cada vez mais, pela comunidade científica, a fim de que se possa identificar não somente o melhor método, como também correlacionar a utilização de mais de uma metodologia de forma organizada e estratégica frente a detecção do marcador viral.

Espera-se, então, que o presente estudo seja um coadjuvante e estimulador na busca pela mitigação dos efeitos negativos promovidos pela atual conjuntura, de forma a instigar maiores discussões acerca da vigente problemática. Só assim, será possível chegar a conclusões mais precisas e certas frente aos efeitos maléficos ocasionados pelo SARS-CoV-2 na sociedade.

5. Referências

CEVS. Guia para a utilização dos testes rápidos de anticorpos SARS-CoV-2 antibody test® da marca Wondfo. Centro Estadual de Vigilância em saúde - RS, Rio Grande do Sul, p. 1-2, s.d. Disponível em: <https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202004/16161242-guia-utilizacao-teste-rapidos-final-3.pdf>. Acesso em: 2 out. 2021.

DANIELA, V. Manual de orientação ao farmacêutico testes rápidos para covid-19 em farmácias. CRF SP, São Paulo, p. 4-7, 2020. Disponível em: http://www.crfsp.org.br/images/arquivos/200512_coronavirus_manual_teste_rapido_RT_s07.pdf. Acesso em: 4 out. 2021.

DIAS, V. M. C. H. et al. Orientações sobre diagnóstico, tratamento e isolamento de pacientes com COVID-19. *Journal of Infection Control*, v. 9, n. 2, p. 56-75, 2020. Disponível em: <https://infectologia.org.br/wp-content/uploads/2020/07/orientacoes-sobre-diagnostico-tratamento-e-isolamento-de-pacientes-com-covid-19.pdf>. Acesso em: 2 out. 2021.

DGITIS. Acurácia dos testes diagnósticos registrados na ANVISA para a COVID-19. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde, Brasília, p. 3-5, 2020. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/June/02/AcuraciaDiagnostico-COVID19-atualizacaoC.pdf>. Acesso em: 4 out. 2021.

EUROIMMUN. Instruções de uso anti-SARS-CoV-2 IgA ELISA. EUROIMMUN Brasil, São Caetano do Sul, p. 1-2, s.d. Disponível em: <https://testecovid19.org/wp-content/uploads/2018/10/Anti-SARS-CoV-2-ELISA-IgA.pdf?x45112>. Acesso em: 4 out. 2021.

FLEURY. Como usar os exames de Covid-19 disponíveis no Fleury. Fleury, p. 3-4, s.d. Disponível em: <https://cdn.cosmicjs.com/d6de77f0-867d-11eb-9605-bb13d512ca1a-Clique-aqui-e-faa-o-download-do-manual-de-exames-de-Covid-19.pdf>. Acesso em: 4 out. 2021.

GUO, L. et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clinical Infectious Diseases*. p. 778-782, 2020. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/71/15/778/5810754>. Acesso em: 4 out. 2021.

MAGNO, L. et al. Desafios e propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para COVID-19 no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*. v. 25, n. 9, p. 3356- 3358. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1413-81232020259.17812020>. Acesso em: 4 out. 2021.

PAN, Y. et al. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *The Lancet. Infectious diseases*. PubMed, 2020, v. 20, n. 4, p. 411–412. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30113-4](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30113-4). Acesso em: 4 de out. 2021

PAVÃO, A. L. et al. Considerações sobre o diagnóstico laboratorial da Covid-19 no Brasil. *Arca*. 2020. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/42557/2/Considera%c3%a7%c3%b5esDiagnosticoLaboratorialPandemia.pdf>. Acesso em: 2 out. 2021.

TOMITA, I. N; BULHÕES, L. O. S. Comparação de métodos para a determinação analítica de antibióticos do tipo β -lactamas. Sociedade Brasileira de química. p. 1, s.d. Disponível em: <http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumos/1277/index.html>. Acesso em: 4 out. 2021.

VIEIRA, L. M. F. et al. COVID-19-Diagnóstico Laboratorial para Clínicos. 2020. Disponível em: <https://preprints.scielo.org/index.php/scielo/preprint/view/411/513>. Acesso em: 2 out. 2021.

VERÍSSIMO, D. Manual de orientação ao farmacêutico testes rápidos para covid-19 em farmácias. CRF SP, São Paulo, p. 7-9, 2020. Disponível em: http://www.crfsp.org.br/images/arquivos/200512_coronavirus_manual_teste_rapido_RT_s07.pdf. Acesso em: 4 out. 2021.

XAVIER, A. R. et al. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 56, 2020. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpml/a/PrqSm9T8CVkPdk4m5Gg4wKb/?lang=pt&format=pdf>. Acesso em: 2 out. 2021.

WANG, W. et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, v. 323, n. 18, p. 1843–1844, 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762997>. Acesso em: 4 out. 2021.