

OS PRINCIPAIS MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO NO CONTEXTO DA PANDEMIA DA COVID-19: UMA BREVE REVISÃO NARRATIVA

Katharine Valéria Saraiva Hodel¹; Bruna Aparecida Souza Machado²

¹ Bolsista de PD&I; Mestranda em Ciências Farmacêuticas; katharine.hodel@fieb.org.br

²Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; brunam@fieb.org.br

RESUMO

As ferramentas de diagnósticos têm desempenhado um papel importante no combate a pandemia da doença do novo coronavírus (COVID-19). Dentro desse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os principais métodos de diagnóstico recomendados para a COVID-19, baseado em dados disponíveis em base de dados de artigos científicos. A metodologia desse trabalho foi realizada através da pesquisa em base de dados para a elaboração de uma revisão narrativa. Os testes moleculares são utilizados para a detecção viral no estágio inicial da doença, se tornando essenciais para a o tratamento precoce. Ensaio sorológicos são indicados para a detecção da presença de anticorpos na fase aguda ou convalescente da doença, desempenhando um papel importante da vigilância epidemiológica. Os testes de antígeno foram recentemente introduzidos como uma ferramenta para a triagem para a doença. Esse estudo mostrou que testes de baixa complexidade de execução são uma importante tendência desse setor.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19; SARS-CoV-2; diagnóstico molecular; diagnóstico sorológico

1. INTRODUÇÃO

O combate a doenças infecciosas causadas pelos vírus é considerado uma das tarefas mais desafiadora da humanidade e, recentemente, o coronavírus da síndrome respiratória aguda 2 (SARS-CoV-2), agente causador da doença do novo coronavírus (COVID-19), tem sido responsável pelo maior desafio de saúde pública do século XXI.¹ Os indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2 podem apresentar sintomas como febre, tosse seca, fadiga ou falta de ar ou outros sintomas respiratórios.² Entretanto, pacientes com sintomas leves podem não apresentar quaisquer sintomas ou podem ser minimamente sintomáticos.³ Além disso, pacientes assintomáticos também são capazes de transmitir o SARS-CoV-2 através de gotículas respiratórias (aerossóis), o que contribuiu para o rápido aumento do número de casos de COVID-19 em todo o mundo.⁴ A detecção rápida e precisa do agente patogênico é essencial para controlar o surto, seja entre indivíduos assintomáticos ou sintomáticos, pois a identificação dos portadores pode interromper as formas de transmissão comunitária e permitir o rastreamento de contato, bem como o tratamento adequado.⁵

Assim, os epidemiologistas consideram que a testagem em massa da população para o SARS-CoV-2, que requer uma alta taxa de testes por habitante, como a via mais prática para conter a pandemia, uma vez que a vacinação a toda população ainda não está disponível e não existem terapias medicamentosas específicas para o SARS-CoV-2. Sendo assim, a testagem permite que medidas de contenção sanitárias sejam adotadas pelas autoridades, bem como quando seria seguro relaxar essas restrições.⁶ Diferentes métodos de diagnóstico laboratorial foram propostos para fornecer uma resposta rápida no combate à pandemia, sendo que cada um deles apresenta um grau de especificidade, baseando-se em na detecção de alvos distintos do material genético viral ou na resposta imunológica à infecção.³ Dentro desse contexto, o objetivo desse trabalho foi avaliar os principais métodos de diagnóstico laboratorial recomendados para a COVID-19, baseado em dados disponíveis em base de dados de artigos científicos.

2. METODOLOGIA

O presente trabalho trata-se de uma revisão narrativa baseada na pesquisa em bases de dados de artigos científicos de referência. Sendo assim, a coleta de dados foi realizada de forma não sistemática, considerando publicações com o tema associado a COVID-19 e os métodos de diagnóstico no período entre dezembro de 2019 a abril de 2021. As pesquisas foram realizadas em bases de dados como PubMed, ScienceDirect e Scopus. Os artigos selecionados foram lidos de forma integral, posteriormente foram categorizados e analisados de maneira crítica pelos autores desse trabalho.

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Durante o surto causado pelo SARS-CoV-2, a detecção de ácido nucléico tem desempenhado um papel importante no diagnóstico precoce, visto que os ensaios que utilizam essa abordagem são capazes de detectar a infecção no estágio inicial, permitindo que terapias medicamentosas ou o isolamento sejam

adotados de forma assertiva.³ Essas técnicas são executadas normalmente a partir de amostras de *swab* obtidas do trato respiratório superior ou inferior. A partir do sequenciamento genético do SARS-CoV-2⁷, diferentes detecções baseadas nessa categoria foram propostas, incluindo métodos baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR), mais precisamente a técnica de PCR em tempo real (do inglês *real-time polymerase chain reaction* ou RT-PCR).⁶ O ensaio de RT-PCR é tido como "padrão ouro" para a COVID-19 e apresenta benefícios importantes como a possibilidade de operação em larga escala. De forma geral, essa técnica é realizada em três etapas principais: (i) a extração do RNA viral das amostras coletadas; (ii) transcrição reversa do RNA viral para um DNA de cadeia única (cDNA) usando a enzima transcriptase reversa; e a etapa final, (iii) a amplificação do cDNA acoplado à detecção fluorescente.⁸ Apesar de ser considerado como o método de diagnóstico mais importante para a detecção do SARS-CoV-2, diferentes estudos têm demonstrado que esse ensaio pode apresentar um baixo desempenho analítico (considerando a precisão, sensibilidade e acurácia) dependendo do tipo de amostra biológica utilizada, do gene alvo do processo de amplificação molecular e do tipo de kit e plataforma utilizados.⁹ Além disso, a execução das etapas previstas nesse ensaio requer a utilização de equipamentos laboratoriais robustos e insumos de alto custo. Dentro desse contexto, por se tratar de um momento de crise no sistema de saúde, diferentes alternativas têm sido propostas considerando a implementação de testes de baixo custo e de fácil operação. A amplificação isotérmica do ácido nucleico (amplificação isotérmica mediada por loop, do inglês *loop mediated isothermal amplification* ou LAMP) e repetições palindrômicas curtas agrupadas e regularmente espaçada (do inglês *clustered regularly interspaced short palindromic repeats* ou CRISPR) são ensaios que tem ganhado relevância nesse contexto, uma vez que são metodologias moleculares que não necessitam de etapas complexas para a sua execução.⁸ Os testes de diagnóstico com essas abordagens são considerados como a grande aposta para os próximos anos, contudo, é importante ressaltar que os estudos voltados para a validação do desempenho analítico dessas técnicas ainda são necessários, o que é uma tendência para os próximos anos nesse setor.⁹

Os ensaios sorológicos também têm apresentado um importante papel na testagem da população e o seu desenvolvimento é baseado na resposta humoral produzida pelo sistema imunológico após a infecção viral. Diferentemente dos testes moleculares, os testes sorológicos são indicados para a avaliação do contato com o SARS-CoV-2 na fase aguda ou convalescente da doença.¹⁰ Por conta disso, os ensaios sorológicos desempenham um papel importante com o avanço da pandemia, uma vez que podem ser utilizados como uma alternativa para a determinação da soroprevalência de uma determinada população para a COVID-19, além de serem importantes para a compreensão da resposta imune contra o SARS-CoV-2, principalmente após a administração de vacinas.³ Em comparação com o teste padrão de ouro para a detecção do SARS-CoV-2, os testes sorológicos são mais baratos e o tempo necessário para o diagnóstico é menor, uma vez que as etapas de execução são menos complexas, onde, por exemplo, não são necessárias etapas para o tratamento da amostra.¹¹ Nesse caso, são utilizadas amostras sanguíneas para a avaliação de imunoglobulinas (Ig) M ou G, que se diferem-se entre si pelo tempo de infecção em que são produzidas. Três principais testes de diagnóstico sorológico têm sido utilizados para avaliar a resposta imune contra o SARS-CoV-2, o ensaio de imunoabsorção enzimática (do inglês *enzyme-linked immunosorbent assays* ou ELISA), imunoenaios de quimioluminescência (do inglês *chemiluminescence immunoassays* ou CLIA) e o teste rápido. Esses ensaios se diferenciam pelo tempo necessário para o diagnóstico, a complexidade das suas etapas de execução e a sua sensibilidade.¹⁰ Comparado com o ELISA e o CLIA, o teste rápido apresenta a menor sensibilidade, entretanto, é o que necessita de menor tempo para a execução das suas etapas.¹¹ Devido à baixa complexidade de operação, esse tipo de teste foi utilizado no Brasil para a testagem em massa da população, indicando a tendência da utilização de testes diagnósticos rápidos e práticos como uma alternativa de enfrentamento de surtos de doenças infecciosas. Contudo, o baixo desempenho analítico desses testes fez com que um grande número de resultados falso positivo ou negativo fossem liberados, o que faz com que o retrato epidemiológico do país não seja representado de forma fidedigna.¹²

Os ensaios para a detecção de antígenos foram recentemente introduzidos como uma ferramenta de diagnóstico a detecção do SARS-CoV-2. Esses testes são baseados na mesma abordagem dos testes rápidos, são práticos e rápidos, contudo, visam a detecção de antígenos em amostras de *swab* do trato respiratório ao invés de anticorpos em amostras sanguíneas.¹³ Os ensaios de antígeno são indicados para a detecção da infecção no estágio inicial e, por conta disso, têm sido considerados como uma alternativa aos testes RT-PCR, uma vez que os resultados dos testes de antígeno podem ser interpretados sem instrumento especializado e normalmente estão disponíveis dentro de 30 minutos. Alguns países têm utilizado os testes de antígeno como uma ferramenta de triagem para a COVID-19, entretanto, o desempenho analítico desses testes ainda são questionáveis.¹⁴

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes diagnóstico desempenharam um papel importante no enfrentamento do surto causado pelo SARS-CoV-2, uma vez que através da testagem da população medidas sejam adotadas no âmbito da saúde pública. Ensaio moleculares, sorológicos e de antígeno são as principais abordagens para o diagnóstico laboratorial da COVID-19, sendo que a técnica RT-PCR é considerada como padrão ouro para a detecção da infecção viral. Testes com baixa complexidade de execução são tidos como a grande aposta desse setor nos próximos anos, entretanto, ressalta-se que investimentos em Pesquisa e Desenvolvimento são necessários para a melhora do desempenho analítico desses testes.

Agradecimentos

A equipe do Instituto de Tecnologias da Saúde do SENAI CIMATEC, especialmente a Profa. Dr^a Bruna Machado.

5. REFERÊNCIAS

- ¹ SHEN, M. et al. Recent advances and perspectives of nucleic acid detection for coronavirus. **Journal of Pharmaceutical Analysis**, 2020, 10, 97–101.
- ² HUANG, C. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. **Nature**, 2020, 579, 270–273.
- ³ PANG, J. et al. Potential Rapid Diagnostics, Vaccine and Therapeutics for 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV): A Systematic Review. **Journal of Clinical Medicine**, 2020, 9, 623.
- ⁴ Zheng, J. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. **International Journal of Biological Sciences**, 2020, 16, 1678–1685.
- ⁵ ZHANG, Z. et al. Wuhan and Hubei COVID-19 mortality analysis reveals the critical role of timely supply of medical resources. **Journal of Infection**, 2020 81, 147.
- ⁶ GUGLIELMI, G. The explosion of new coronavirus tests that could help to end the pandemic. **Nature**, 2020, 583, 506–509.
- ⁷ ZHOU, P. et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin, **Nature**, 2020, 579, 270–273.
- ⁸ KUBINA, R.; Dziedzic, A. Molecular and Serological Tests for COVID-19. A Comparative Review of SARS-CoV-2 Coronavirus Laboratory and Point-of-Care Diagnostics. **Diagnostics**, 2020, 10, 434.
- ⁹ MACHADO, B. A. S. et al. The Main Molecular and Serological Methods for Diagnosing COVID-19: An Overview Based on the Literature. **Viruses**, 2020, 13, 40.
- ¹⁰ CHAU, C. H.; STROPE, J. D.; FIGG, W. D. COVID-19 Clinical Diagnostics and Testing Technology. Pharmacotherapy: **The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy**, 2020, 40, 857–868.
- ¹¹ LA MARCA, A. et al. Testing for SARS-CoV-2 (COVID-19): a systematic review and clinical guide to molecular and serological in-vitro diagnostic assays. **Reproductive BioMedicine Online**, 2020, 41, 483–499.
- ¹² LAUREANO, A. F. S.; RIBOLDI, M. The different tests for the diagnosis of COVID-19 - A review in Brazil so far. **JBRA Assisted Reproduction**, 2020, 340–346.
- ¹³ MAK, G. C. et al. Evaluation of rapid antigen test for detection of SARS-CoV-2 virus. **Journal of Clinical Virology**, 2020, 129, 104500.
- ¹⁴ KRÜTTGEN, A. et al. Comparison of the SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test to the Real Star Sars-CoV-2 RT PCR Kit. **Journal of Virological Methods**, 2020, 288, 114024.