

AVALIAÇÃO DAS PRINCIPAIS TECNOLOGIAS UTILIZADAS PARA DIAGNÓSTICOS DE COVID-19

Ana Paula de Sousa Coelho¹, Larissa Vinagre Queiroz², Adriny dos Santos Miranda Lobato³,
Adriane dos Santos Miranda Lobato⁴, Marcos Benedito Adão⁵, Thiago Maués Amaral⁶

¹Faculdade Cosmopolita, Universidade do Estado do Pará (UEPA), (paulasc.012@gmail.com),

²Centro Universitário Metropolitano da Amazônia (UNIFAMAZ), (vqlarissa8@gmail.com),

³Faculdade Cosmopolita, (adrinysantos2@gmail.com),

⁴Faculdade Cosmopolita, (adrianelobato31@gmail.com),

⁵Universidade do Estado de Minas Gerais (UEMG), (marcosbenedito.mba16@gmail.com).

⁶Instituto Nacional de Perícias e Ciências Forenses (INFOR), Instituto Socioambiental e Dos Recursos Hídricos, Universidade Federal Rural da Amazônia (UFRA), (thiago.maues@outlook.com).

Resumo

Objetivo: realizar uma explanação com o propósito de descrever as principais tecnologias para diagnósticos de COVID-19. **Método:** Este presente artigo tem como caráter exploratório e descritivo, realizando uma abordagem qualitativa e quantitativa, utilizados os bancos de dados SciELO, Pubmed e Google Acadêmico para a investigação de artigos condizentes com a temática proposta. Utilizando palavras-chave: Pandemia, COVID-19, Diagnóstico e Métodos, as estratégias de busca estabelecidas basearam-se em suas combinações na língua portuguesa e utilizando o operador booleano AND. Como critérios de inclusão foram selecionados os trabalhos encontrados nos idiomas português e inglês, presentes em repositórios de entidades públicas e privadas, coletando artigos dos anos de janeiro de 2020 até junho de 2021, excluído assim, trabalhos que estejam em outro idioma que não se encaixe no critério. **Resultados:** Os principais testes sorológicos são Imunocromatografia, Quimioluminescência, Eletroquimioluminescência e ELISA, são indicados para um diagnóstico tardio, uma vez que, sua acurácia pode aumentar a partir do 7º dia de infecção, os testes moleculares são RT-LAMP e o RT-PCR, a vantagem desses é que podem ser realizados na fase inicial da infecção do vírus, possuem quase o mesmo custo e duração para o diagnóstico final, apesar de que este último apresenta uma especificidade e sensibilidade superior ao anterior. **Considerações Finais:** Apesar de metodologias promissoras e a acurácia de cada testes depender do fabricante, a RT-PCR ainda é o teste mais indicado para diagnóstico definitivo da COVID-19, testes esse padrão ouro.

Palavras-chave: COVID-19; Coronavírus; Diagnóstico; Sorológico; Molecular;

Área Temática: Inovações e Tecnologias no Enfrentamento a COVID-19.

Modalidade: Trabalho completo

1 INTRODUÇÃO

Em 2019 na cidade de Wuhan, China, foi observado um surto de pneumonia sem causa definida, desenvolvendo sintomas sugestivos de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS), com alto poder infeccioso e uma elevada taxa de mortalidade. Em 10 de janeiro de 2020, o vírus Sars-Cov-2 foi isolado e identificado como o novo coronavírus, salientando a padronização de testes em prol de aprimorar o diagnóstico de COVID-19 (OMS, 2020).

O Sars-Cov-2, é um vírus icosaédrico envelopado, possuindo glicoproteínas formando estruturas semelhantes a uma coroa, além disso, possui genoma de RNA fita simples, com o sequenciamento do material genético viral possibilitou o emprego de testes moleculares, como o RT-PCR, mediante o desenvolvimento de sondas específicas que anelam em regiões genômicas, tais como, o gene *spike* e posteriormente *RdRp* gene e *Sarbecovirus* COVID-19 (MOHAMADIAN *et al.*, 2021).

Além dos testes moleculares, os testes sorológicos são importantes no período da janela imunológica, possuindo o objetivo de identificar os marcadores imunológicos (antígenos e anticorpos). Os ensaios comumente utilizados trata-se de imunocromatografia de fluxo lateral (tandard Q COVID-19 Ag), ELISA, imunofluorescência (IF) e *Western Blot* (WB). Os ensaios sorológicos, consistem na detecção das proteínas S e N, sendo específico. Além disso, os ensaios sorológicos possibilitam a detecção dos anticorpos Anti-Sars-Cov-2 IgG e IgM mediante o processo infeccioso (SIDIQ *et al.*, 2020).

É de suma importância que a comunidade científica e a sociedade em geral saibam as abordagens de diagnósticos para a determinação do agente causador do quadro em razão. Compreende-se que quanto mais precoce for o diagnóstico, melhores condições o médico terá para orientar os cuidados com o paciente bem como para instituir medidas de isolamento que visam o controle da disseminação viral.

Sendo assim, ainda existem outras metodologias para diagnóstico da COVID-19, além das já citadas. Por tanto, este trabalho tem como objetivo descrever as principais tecnologias para diagnósticos de COVID-19 encontradas na literatura, informando sobre a acurácia, custo, tempo para a realização dos testes e as diferentes abordagens de cada método.

2 MÉTODO

Este presente artigo tem como caráter exploratório e descritivo, realizando uma abordagem qualitativa e quantitativa, com o propósito de descrever as principais tecnologias

para fins de diagnóstico de covid-19. Foram utilizados os bancos de dados SciELO, Pubmed e Google Acadêmico para a investigação de artigos condizentes com a temática proposta. As palavras-chave de escolha foram: Pandemia, COVID-19, Diagnóstico e Métodos, as estratégias de busca estabelecidas basearam-se em suas combinações na língua portuguesa e utilizando o operador booleano AND.

Como critérios de inclusão foram selecionados os trabalhos encontrados nos idiomas português e inglês, presentes em repositórios de entidades públicas e privadas, coletando artigos dos anos de janeiro de 2020 até junho de 2021, excluído assim, trabalhos que estejam em outro idioma que não se encaixe no critério.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram levantados 15 artigos que se encaixavam nos critérios delimitados para a inclusão do trabalho, servindo como base para a fundamentação do mesmo. 4 artigos selecionados foram utilizados para a estruturação da tabela, e 12 serviram como base teórica e para a discursão do trabalho.

Atualmente existem dois métodos para diagnóstico de covid-19, sendo eles, sorológicos e moleculares (FRANGOSO, 2020; RIBEIRO *et al.*, 2020). Os testes sorológicos detectam no sangue a presença de anticorpos da classe IgM e IgA ou IgG contra proteínas do vírus SARS-CoV-2 (SBAC, 2020). Os testes moleculares são baseados na amplificação do material genético (RNA) do vírus (XU *et al.*, 2020). Segundo os achados da literatura, os principais testes para diagnósticos de covid-19 são:

Testes laboratoriais remotos (TLR): são testes imunocromatografia, ou “testes rápidos”, possui uma membrana de nitrocelulose com antígenos específicos, são testes qualitativos dos anticorpos IgM e IgG de amostras de sangue total, soro ou plasma, tem uma detecção rápida, por volta de 15 a 30 minutos, essa agilidade ajuda na triagem de pacientes (MAGNO *et al.*, 2020; CELER BIOTECNOLOGIA, 2021).

Porém, os ensaios imunocromatográficos podem não quantificar e pode haver também, falsos positivos por reação cruzada de uma outra doença (CHOE *et al.*, 2020). O Ministério da Saúde (2020), evidencia uma taxa de erro para diagnósticos negativos de 75%.

Testes sorológicos automatizados: os testes ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*), Eletroquimioluminescência e Quimioluminescência são realizados em equipamentos

analíticos que quantificam os anticorpos IgM e IgG de amostras de sangue total, soro ou plasma (VIEIRA *et al.*, 2020).

O teste ELISA é específico para anticorpos neutralizantes, que fazem a inibição da ação do vírus no organismo, esses anticorpos estão presentes após infecção natural ou vacinação, indicado este teste é indicado no 14º dia após ter entrado em contato com o vírus (DASA, 2021).

O teste de Eletroquimioluminescência quantifica os anticorpos totais e o de Quimioluminescência discrimina anticorpos das classes IgG ou IgM, e assim como o ELISA é indicado realizar o teste somente após o 14º dia do relato do primeiro sintoma (DASA, 2021; MAGNO *et al.*, 2020).

Testes moleculares: A técnica denominada “Amplificação isotérmica mediada por loop” (LAMP), é uma técnica promissora no diagnóstico do Sars-Cov-2, sendo de baixo custo, específica e altamente sensível, a coleta para o teste é feita com swab de nasofaringe (DASA, 2021). O teste consiste no deslocamento da fita de RNA alvo mediada pelo reconhecimento de primers; a reação produz em média de 9 a 10 ciclos possibilitando a visualização da amplificação nos primeiros ciclos (HUANG *et al.*, 2020).

O RT-LAMP apesar de ser um teste possui rapidez no diagnóstico e ter uma sensibilidade e especificidade alta, ainda assim, sua sensibilidade é inferior quando comparada ao RT-PCR por volta de 76% a 97%, porém, é um teste com resultado bem rápido (DASA, 2021).

O RT-PCR também faz a identificação do RNA do vírus, por meio de amostras de nasofaringe e de saliva, podendo até mesmo verificar a possibilidade de transmissão em indivíduos pré-sintomáticos e assintomáticos, sua principal diferença da RT-LAMP é que, enquanto este, usa um ambiente isotérmico, a RT-PCR tem diferentes mudanças de temperatura (HUANG *et al.*, 2020), além de ser considerado um teste diagnóstico padrão ouro até o momento (SBAC, 2020; MOHAMADIAN *et al.*, 2021). O teste pela saliva ainda é o menos sensível, com um percentual de 78%, do que o de nasofaringe que possui a sensibilidade de 84%-92%, nos 7 primeiros dias de sintomas (DASA, 2021).

Tabela 1: metodologias usadas nos testes diagnósticos de COVID-19.

METODOLOGIA	TIPO DE TESTE	ACURÁCIA	CUSTO	REALIZAÇÃO DO TESTE
Eletroquimioluminescência	Sorológico	Pode chegar até 95% de sensibilidade e	\$	após o 14º dia de sintomas

		100% de especificidade		
Imunocromatografia	Sorológico	IgM: Especificidade: 96,0% - 99,57% Sensibilidade: 78% - 90% IgG: Especificidade: 98% - 99,57% Sensibilidade: 84,3% - >99,9%	\$	após o 7º dia de sintomas
Quimioluminescência	Sorológico	IgM: Especificidade: 97,50% Sensibilidade: 78,65% IgG: Especificidade: 97,33% Sensibilidade: 91,21%	\$	após o 14º dia de sintomas
ELISA	Sorológico	IgM: Especificidade: 99% - 99,87% Sensibilidade: 66% - 100% IgG: Especificidade: 92,5% - 99,87% Sensibilidade: 58% - 100%	\$\$\$	após o 14º dia de sintomas
RT-LAMP	Molecular	Sensibilidade e especificidade: 76% - 97%	\$\$\$	entre o 3º até 7º dia de sintomas
RT-PCR	Molecular	IGM: Especificidade: 99,2% - 100% Sensibilidade 86,43% - 100% IGG: Especificidade: 99,5% - 100% Sensibilidade 86,43% - 100%	\$\$ / \$\$\$	entre o 3º até 7º dia de sintomas

Fonte: Autores, 2021.

Na tabela acima, pode-se perceber que existem 4 principais testes utilizados para o diagnóstico de COVID-19 por meio da sorologia, e 2 principais testes de abordagem molecular, os testes moleculares são indicados para serem realizados até o 7º dia de sintoma,

posteriormente, são indicados realizar os testes sorológicos, o teste de Imunocromatografia ou “teste rápido” é o teste que tem sido adotado pela maioria das secretarias de saúde do Brasil, por conta do custo, facilidade e rapidez no diagnóstico, a problemática dessa técnica é que podem haver omissão de sintomas ou até mesmo o paciente relatar que já está sentindo sintomas há dias, e isso pode resultar em um falso negativo, o que permitiria o paciente ainda transmitir o vírus para mais pessoas, sem obedecer a quarentena de forma adequada.

Já os testes de Quimioluminescência, Eletroquimioluminescência e ELISA, são testes tardios, que quantificam a presença de anticorpos já adquiridos contra o vírus, após o período de infecção, onde este último, é considerado o mais caro entre os sorológicos, e ambos possuem um percentual bom de especificidade e sensibilidade.

A vantagem dos testes moleculares é que podem ser realizados na fase inicial da infecção do vírus, quando a carga viral ainda está baixa, o RT-LAMP e o RT-PCR possuem quase o mesmo custo e duração para o diagnóstico final, apesar de que este último apresenta uma especificidade e sensibilidade superior ao anterior. Esses testes ainda permitem uma maior precisão no diagnóstico, evitando os “falsos negativos”, o que seria ideal para fazer o rastreio de contaminação e que o vírus se espalhe mais rápido.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os testes sorológicos são indicados para um diagnóstico tardio, uma vez que, sua acurácia pode aumentar após o 7º dia de infecção, devido aos seus marcadores serem sintetizados tardiamente, podendo ser um teste de confirmação da imunocromatografia, já que, este é o teste que apresenta um maior percentual de erro. Quanto aos testes moleculares, são indicados nos primeiros dias de infecção, visto que a carga viral ainda se encontra baixa.

A técnica RT-LAMP se mostra bastante promissora, com sua rapidez, alta sensibilidade e especificidade e ainda tem uma taxa de 95% de concordância com a RT-PCR, A detecção de SARS-CoV-2 por meio da coleta em *swab* (RT-PCR) tem a sensibilidade e especificidade maior do que quando coletado em saliva, e utilizar a versão POCT (*Point Of Care Testing*), traz a possibilidade de diminuir o tempo do resultado, em contrapartida há aumento de custo.

Os testes possuem suas limitações que estão relacionadas com a janela de detecção do Sars-Cov-2, haja vista que, se o teste não for realizado dentro do período de detecção de cada marcador, sua sensibilidade é diminuída aumentando o risco de um “falso negativo”. A detecção do RNA viral é recomendada entre o 3º até 7º dia de sintomas, pois, já possui carga viral significativa para a amplificação do material genético, elevando a sensibilidade do teste.

Portanto, apesar de metodologias promissoras e a acurácia de cada testes depender dos kits diagnósticos e do fabricante, a RT-PCR ainda é o teste mais indicado para diagnóstico definitivo da COVID-19, sendo considerado como padrão ouro.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Acurácia dos testes diagnósticos registrados na ANVISA para a COVID-19. Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde – DGITIS/SCTIE. Brasília, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde (MS). Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional pela Doença pelo Coronavírus 2019: Vigilância Integrada de Síndromes Respiratórias Agudas Doença pelo Coronavírus 2019, Influenza e outros vírus respiratórios. Brasília, MS, 2020.

CASTRO, R.; LUZ, P. M.; WAKIMOTO, M. D.; VELOSO, V. G.; GRINSZTEJN, B.; PERAZZO, H. COVID-19: a meta-analysis of diagnostic test accuracy of commercial assays registered in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 24, n. 2, p. 180-187, 2020.

CELER BIOTECNOLOGIA, 2021. Disponível em: <https://celer.ind.br/entenda-a-diferenca-entre-os-dois-tipos-de-testes-de-diagnostico-mais-utilizados-para-covid-19/>. Acessado em: 25 de maio de 2021.

CHOE, J. Y., KIM, J. W.; KWON, H. H.; HONG, H. L.; JUNG, C. Y.; JEON, C. H.; KIM, S. K. Diagnostic performance of immunochromatography assay for rapid detection of IgM and IgG in coronavirus disease 2019. **Journal of medical virology**, v. 92, n. 11, p. 2567-2572, 2020.

DASA. Exames Diagnósticos para COVID – 19 (Coronavírus), 2021. Disponível em: <https://dasa.com.br/exames-covid-sorologia-pcr>. Acessado em 23 de maio de 2021.

DIAS, V. D. C.; CARNEIRO, M.; MICHELIN, L.; VIDAL, C. F. L.; COSTA, L. A. T. J.; FERREIRA, C. E. S. Testes sorológicos para COVID-19: interpretação e aplicações práticas. **J. Infect. Control**, v. 9, 2020.

FLEURY. Conheça as diferenças entre os testes diagnósticos para Covid-19, 2021. Disponível em: <https://www.fleury.com.br/medico/artigos-cientificos/conheca-as-diferencas-entre-os-testes-diagnosticos-para-covid-19>. Acessado em 20 de junho de 2021.

FRAGOSO, M. A. O Vírus que mudou paradigmas. **Revista de Saúde-RSF**, v. 7, n. 2, 2020.

HUANG, W. E.; LIM, B.; HSU, C. C.; XIONG, D.; WU, W.; YU, Y.; CUI, Z. RT-LAMP for rapid diagnosis of coronavirus SARS-CoV-2. **Microbial biotechnology**, v. 13, n. 4, p. 950-961, 2020.

MAGNO, L; ROSSI, T. A.; MENDONÇA-LIMA, F. W.; SANTOS, C. C.; CAMPOS, G. B.; MARQUES, L. M.; SANTOS, M. P.; PRADO, N. M. B. L.; DOURADO, I. Desafios e

propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para COVID-19 no Brasil. **Cien Saude Colet**, 2020.

MOHAMADIAN, M.; CHITI, H.; SHOGHLI, A.; BIGLARI, S.; PARSAMANESH, N.; ESMAEILZADEH, A. **The journal of gene medicine**, v. 23, n. 2, p. e3303, 2021.

Organização Mundial da Saúde. **Novo Coronavírus – China**, 2020. Disponível em: <https://www.who.int/csr/don/12-january-2020-novel-coronavirus-china/en/>. Acessado em: 02 de junho de 2021.

PINTO, G. R. S. P.; DE SOUSA SOUSA, H. M.; CUNHA, M. A. C.; MELO, M. M. C. M.; TEIXEIRA, C. V. P. T.; MOURA, I. E. D. S. M.; FIRMO, W. D. C. A. F. Aspectos gerais das técnicas laboratoriais para o diagnóstico da COVID-19. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p. e804997845-e804997845, 2020.

RIBEIRO, D. B.; FERREIRA, R. A. X.; MARINS, A. B. L.; JÚNIOR, P. J. B. S.; PINHEIRO, A. C. P. M. COVID-19: UM ESCLARECIMENTO FRENTE AOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS. **Revista Transformar**, v. 14, n. 2, p. 205-215, 2020.

SIDIQ, Z.; HANIF, M.; KUMARDWIVEDI, K.; CHOPRA, K. K. Benefits and limitations of serological assays in COVID-19 infection. **Indian Journal of Tuberculosis**, 2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS (SBAC). **Métodos laboratoriais para diagnóstico da COVID-19**. Disponível em: <http://www.sbac.org.br/blog/2020/03/25/metodos-laboratoriais-para-diagnosticoda-covid-19/>. Acessado em: 20 de maio de 2021.

VEROTTI, M. P.; RAMOS, M. C.; HENRIQUES, C. M. P.; ELIAS, F. T. S.; CAMARGO, E. B. **Testes diagnósticos para COVID-19 registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária**: sensibilidade e especificidade reportadas pelos fabricantes, 2020.

VIEIRA, L. M. F.; EMERY, E.; ANDRIOLO, A. COVID-19-Diagnóstico Laboratorial para Clínicos, 2020.

XU, X.; SUN, J.; NIE, S.; LI, H.; KONG, Y.; LIANG, M.; HOU, F. F. Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China. **Nat Med** **26**, 1193–1195, 2020.