

# COVID-19: UM ESCLARECIMENTO FRENTE AOS MÉTODOS DIAGNÓSTICOS

## COVID-19: A CLARIFICATION REGARDING DIAGNOSTIC METHODS

***Daniel Boechat Ribeiro***

Estudante de Medicina da UNIG-Campus V.

***Ralph Antonio Xavier Ferreira***

Médico Infectologista e Professor da UNIG- Campus V.

***Ana Beatriz Lima Marins***

Médica Infectologista e Professora da UNIG- Campus V.

***Paulo Jonas Boechat da Silveira Júnior***

Estudante de Medicina da UNIG-Campus V.

***Ana Carolina Pessoa de Mello Pinheiro***

Estudante de Medicina da UNIG-Campus V.

### RESUMO

A doença causada pelo novo coronavírus (Covid-19), expõe uma problemática mundial de saúde pública. A correlação entre sinais e sintomas através de uma semiologia efetiva, pode guiar a excelência diagnóstica através de um critério laboratorial que promova a dinâmica entre o tempo do paciente infectado pelo ribovírus, até o seu prognóstico. O desenvolvimento do presente estudo provém de uma revisão qualitativa de trabalhos publicados em periódicos científicos que abordavam os aspectos clínicos da patologia, bem como a abordagem diagnóstica baseada em exames laboratoriais direcionados aos Testes Imunológicos e ao RT-PCR (Real time – Polymerase Chain Reaction). Onde a detecção de anticorpos específicos, tal como a amplificação das sequências de RNA viral pela reação em cadeia da polimerase, impulsionaram técnicas que permitiram a inovação da biologia molecular contemporânea. Concluindo, observou-se que o paciente demanda de uma análise laboratorial detalhada, pois a similaridade sintomatológica com outras patologias podem prejudicar o percurso da conduta.

**Palavras-chave:** coronavírus, sintomas, prognóstico, técnicas.

## **ABSTRACT**

The disease caused by the new coronavirus (Covid-19), exposes a worldwide public health problem. The correlation between signs and symptoms through an effective semiology, can guide diagnostic excellence through a laboratory criterion that promotes the dynamics between the time of the patient infected with ribovirus, until his prognosis. The development of the present study comes from a qualitative review of papers published in scientific journals that addressed the clinical aspects of the pathology, as well as the diagnostic approach based on laboratory tests directed to Immunological Tests and RT-PCR (Real time - Polymerase Chain Reaction). Where the detection of specific antibodies, such as the amplification of viral RNA sequences by the polymerase chain reaction, boosted techniques that allowed the innovation of contemporary molecular biology. In conclusion, it was observed that the patient demands a detailed laboratory analysis, as the symptomatological similarity with other pathologies can impair the course of the conduct.

**Keywords:** coronavirus, symptoms, prognosis, techniques.

## **RESUMEN**

La enfermedad causada por el nuevo coronavirus (Covid-19) expone un problema de salud pública mundial. La correlación entre signos y síntomas a través de una semiología efectiva, puede guiar la excelencia diagnóstica a través de un criterio de laboratorio que promueve la dinámica entre el tiempo del paciente infectado con ribovirus, hasta su pronóstico. El desarrollo del presente estudio proviene de una revisión cualitativa de artículos publicados en revistas científicas que abordan los aspectos clínicos de la patología, así como el enfoque de diagnóstico basado en pruebas de laboratorio dirigidas a Pruebas inmunológicas y RT-PCR (Tiempo real - Reacción en cadena de la polimerasa). Donde la detección de anticuerpos específicos, como la amplificación de secuencias de ARN virales por la reacción en cadena de la polimerasa, impulsó técnicas que permitieron la innovación de la biología molecular contemporánea. En conclusión, se observó que el paciente exige un

análisis de laboratorio detallado, ya que la similitud sintomatológica con otras patologías puede afectar el curso de la conducta.

**Palabras clave:** coronavirus, síntomas, pronóstico, técnicas.

## 1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A pandemia Sars-CoV-2, a Covid-19, foi decretada oficialmente pela Organização Mundial da Saúde (OMS) no dia 11 de março de 2020. Desde então, vírus tem-se disseminado de forma devastadora pelos continentes, mundo afora. Segundo a OMS, até o dia 16 de julho de 2020, quatro meses após o decreto, no mundo inteiro estimam-se um total de 13.378.853 casos confirmados da doença e 580.045 mortes (OPAS, 2020). Na fase inicial da doença, o paciente com coronavírus pode apresentar cefaleia, febre, tosse, dispneia, mialgia e fadiga. Tais sintomas, indistinguíveis dos causados por outras doenças virais, justificam a procura por atendimento médico (OPAS, 2020).

Neste relato, a metodologia empregada é qualitativa a partir de pesquisa bibliográfica em artigos científicos disponíveis nas bases indexadas, tais como *Scopuse* Google Acadêmico, além de referencial teórico encontrado em recentes estudos realizados por especialistas neste tema.

Justifica-se na abordagem diagnóstica a determinação do agente causador do quadro em razão da premente necessidade de contribuir para a informação não somente para a comunidade acadêmica mas também para a sociedade de um modo geral. É sabido 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. Salienta-se que neste momento, a população mundial necessita de informações de conteúdo factual sobre os métodos diagnósticos da doença e como devem ser utilizados para o seu combate (BRASIL, 2020).

## 2 EXAMES DISPONÍVEIS NA DETECÇÃO DA COVID-19

No contexto da Covid-19, inicialmente a avaliação do enfermo deverá ser realizada por meio da anamnese. Trata-se de inquérito pessoal no qual o médico verifica se o paciente apresentou alguns dos sintomas próprios da doença e permite enquadrá-lo em algum grupo de risco para adquirir a forma grave da doença. Além de ser fundamental para estabelecer um vínculo com algum caso confirmado ou suspeito da doença. Na sequência é realizado o exame físico, no qual o médico encarregado avalia o padrão respiratório, aferição de temperatura axilar, frequências cardíaca e respiratória, oximetria de pulso, auscultação pulmonar, em adição à avaliação de sinais de presença de cianose e hipóxia do paciente. (BRASIL, 2020)

Após anamnese e exame físico, caso o médico esteja suspeitando da doença ocasionada pelo vírus Sars-CoV-2, deve solicitar exame laboratorial para confirmar a suspeita, uma vez que apenas assim poderá se assegurar do diagnóstico (BRASIL, 2020). Ademais, se houver alteração na semiótica respiratória, indica-se realização de raio-X ou tomografia computadorizada de tórax, com intuito de rastrear sinais de pneumonia (BRASIL, 2020). Existem alguns métodos de diagnóstico laboratorial disponíveis para a Covid-19, de importância o RT-PCR, a sorologia para detecção IgG, IgM e IgA e teste rápido para detecção IgG e IgM (ALBERT EINSTEIN, 2020).

A amostra para a realização do RT-PCR é coletada na região da naso e orofaringe. O princípio do teste é o PCR em tempo real para detecção do RNA viral. Este exame apresenta a maior especificidade (100%) de todos os exames disponíveis para detecção desse vírus. Deve ser realizado em no máximo sete dias a partir do início dos sintomas, sendo o período ideal para sua realização entre três a cinco dias desse período. Tendo valor, portanto, apenas na fase aguda da doença (ALBERT EINSTEIN, 2020). Entretanto, deve-se observar que a sensibilidade do exame é reduzida quando são utilizadas amostras com baixa carga viral. Outras desvantagens do teste são tempo necessário entre a coleta e a disponibilização do resultado, a necessidade de estrutura física especializada e de equipe técnica qualificada (BRASIL, 2020)

O estudo sorológico com a detecção da IgG e da IgM é realizado em amostra de sangue e o princípio do teste se dá através da quimioluminescência. Esse teste apresenta especificidade ligeiramente menor que o RT-PCR e sensibilidade de 91% para IgG e 68% para IgM. Deve ser realizado após o décimo quinto dia de início dos sintomas. Sua grande desvantagem é não ser útil na fase aguda da doença (ALBERT EINSTEIN, 2020).

O estudo sorológico para detecção de IgA também é realizado em amostras de sangue e o princípio do teste é por meio de ELISA. O teste possui especificidade e sensibilidade de 90% e pode ser realizado após o décimo dia do início dos sintomas. Caso resultado seja positivo, pode significar que o paciente está com a doença ativa ou que teve contato recente com o vírus (ALBERT EINSTEIN, 2020)

O teste rápido para IgG e IgM, igualmente, é realizado a partir de amostra de sangue e tem como princípio a imunocromatografia. Apresenta boa sensibilidade para IgG e moderada para IgM e alta especificidade para ambos. Sua principal vantagem se dá pela rapidez no resultado e pela facilidade que apresenta para sua realização. Contudo, não contribui para diagnóstico na fase aguda da doença, uma vez que deve ser realizado após o décimo quinto dia de sintomas (ALBERT EINSTEIN, 2020).

### **3 DIAGNÓSTICO BASEADO NO CRITÉRIO LABORATORIAL – TESTES IMUNOLÓGICOS**

Expandir os testes para o diagnóstico do COVID-19 é um desafio para a sociedade brasileira e para o nosso sistema único de saúde (SUS). Embora estejamos diante de um processo de escassez de investimentos de longo prazo e a ameaça ao sistema tenha sido constante por muitos anos, o SUS tem mecanismos de gestão descentralizada e de vigilância epidemiológica capazes de responder adequadamente aos desafios apresentados de maneira gradual. (MS, 2020)

Sendo um grande desafio para o mundo, o COVID-19 não foi diferente no Brasil. É inegável que a comunidade científica tenha muito trabalho para desvendar essa nova moléstia. O que se tem utilizado, visando o diagnóstico virológico são testes com fundamentos imunológicos para detecção do COVID-19. A saber: ELISA; teste rápido/imunocromatografia e quimiluminescência. Nesses procedimentos, utilizam-se diversos fluídos corporais como o plasma sanguíneo, o próprio sangue, lavado broncoalveolar e pesquisa direta em material oriundo nasofaringe e de orofaringe. (XU W, 2020)

Os Testes imunoenzimáticos (ELISA), permitem a detecção de anticorpos específicos. São de grande importância, pois podem ser realizados em pacientes sintomáticos e assintomáticos. O ELISA também auxilia no acompanhamento do tratamento acusando o estado imune ao COVID-19, ou seja, pela soroconversão das imunoglobulinas. Além disso, tem a vantagem da rapidez dos resultados, tem custo relativamente baixo, porém podem apresentar baixa sensibilidade.

O tempo médio de detecção de anticorpos IgM e IgA em se tratando de infecção por SARS-CoV-2 é de cinco dias (intervalo interquartil - IIQ 3-6 dias), enquanto o IgG pode ser detectado em menos de 14 dias (IIQ 10-18 dias) após o início dos sintomas, com um indicador positivo de respectivamente, 85,4%, 92,7% e 77,9%. (WHO, 2020).

O Teste rápido ou imunocromatografia na realidade do COVID-19 traz uma agilidade importante, pois sua leitura ocorre entre 15 e 30 minutos (ELISA de 1 a 2 horas), facilitando a triagem do paciente que devido a alta taxa de infectividade do vírus deve ser rapidamente separado dos demais (MAGNO, 2020). O antígeno ou anticorpo é anexado à membrana na forma de linhas ou pontos e o restante da membrana é bloqueado por uma proteína neutra, como no imunoensaio enzimático (ELISA). Os anticorpos ligados à linha de captura podem ser usados para detectar antígenos, e o segundo anticorpo conjugado com corante é usado como um conjugado. Um dos métodos imunológicos desses testes utiliza um corante insolúvel, como ouro coloidal (rosa) ou prata coloidal (azul marinho) como descobridor da interação antígeno-anticorpo. No

caso do teste para COVID-19, utiliza-se uma lâmina de nitrocelulose. A amostra aplicada se liga ao conjugado colorido e após a migração por cromatografia a formação de um imunocomplexo é revelada pela deposição de um corante coloidal na linha de captação. O Ministério da Saúde aponta que os testes rápidos apresentam uma taxa de erro de 75% para resultados negativos. (MS, 2020)

Quimioluminescência (CLIA), A detecção de anticorpos da classe IgM contra SARSCoV-2 teve aumentada a sensibilidade aos sete dias após o início dos sintomas e se aproxima de 100% após 14 dias. Esses períodos podem variar de acordo com a gravidade do quadro clínico. Pode ajudar no diagnóstico diferencial nas seguintes situações: PCR negativo, onde se matem a suspeita diagnóstica, depois da segunda ou terceira semana de doença. (MAGNO, 2020)

#### **4 DIAGNÓSTICO BASEADO NO CRITÉRIO LABORATORIAL: RT - PCR**

O RT-PCR (*Real time - Polymerase Chain Reaction*) é uma técnica direcionada à biologia molecular contemporânea, sendo fundamental para a detecção do vírus SARS-CoV-2. A dinâmica atuante do ribovírus com o exame permite a amplificação das sequências de RNA viral pela reação em cadeia da polimerase, promovendo a viabilização e a sua identificação no organismo, direcionando o desempenho de seus efeitos benéficos a partir de um ensaio qualitativo, específico e simples. Tal método diagnóstico é considerado como “padrão-ouro” para análise e investigação da doença, sendo recomendado para indivíduos que apresentam sintomas associados ao coronavírus (ANDRADE, 2020).

É interessante ressaltar, que o diagnóstico torna-se crítico para a prevenção e também para o controle das ações microbiológicas de um vírus com potencial pandêmico, onde as manifestações clínicas não podem por si só definir o diagnóstico de COVID-19 (TAHAMTAN; ARDEBILI, 2020). Dessa forma, a perspectiva baseada na detecção de ácidos nucleicos, principalmente

em pacientes com início precoce dos sintomas, permite um processo de conduta tecnologicamente confiável para a constatação viral. Entretanto, estima-se que o período mais adequado para essa detecção é de aproximadamente entre 3 a 7 dias após o início dos sintomas. Já o tempo previsto para o resultado, pode ser obtido em cerca de 4 horas em casos de PCR clássico e de 6 a 8 horas em relação ao PCR em tempo real (USP, 2020).

A técnica referida procede em inúmeras cópias que são derivantes de um único fragmento de DNA, onde essas moléculas são duplicadas *in vitro*, em virtude de esse método ser repetido várias vezes. Tal procedimento é realizado por um termociclador, dispositivo que automatiza o processo de amplificação dessa sequência específica de ácido desoxirribonucleico, impulsionando a programação da temperatura de forma elevada, a fim de aumentar a velocidade das reações químicas entre os *primers*. Esses *primers* podem selecionar uma pequena sequência de nucleotídeos complementares, fornecendo assim, um ponto de iniciação para o processo, provenientes a partir do RNA viral, e também pela atividade inicial da Transcriptase reversa. Por conseguinte, haverá a atuação da enzima Taq DNA polimerase, que irá incitar a interação entre os nucleotídeos produzindo novas fitas de DNA, usando uma fita existente como modelo (SBAC, 2020).

Ainda, como salientam esses autores, há também outras particularidades em relação ao PCR convencional, baseado em corantes fluorescentes que se ligam a qualquer DNA de fita dupla. Além das sondas de DNA que são específicas para sequência de nucleotídeos e marcadas com um repórter fluorescente que pode ser detectado após o processo de hibridação da sonda em sua sequência complementar que foi sintetizada, ocasionando uma reação em cadeia da polimerase em tempo real, ou reação em cadeia da polimerase quantitativa (SBAC, 2020).

Sendo assim, deve-se atentar quanto ao risco em relação à obtenção de resultados falso-negativos, de modo que o RT-PCR em tempo real pode ser mediado em diferentes genes e por consequência, sendo afetado devido variação de sequências em seu RNA viral. Acredita-se que a diversidade genética e o índice de probabilidade em caráter evolutivo, indicam que alguns

falso-negativos podem decorrer-se por mutações em regiões alvo de iniciação e em sondas no genoma de SARS-CoV-2. Pacientes com estes resultados podem ocorrer principalmente devido a presença de inibidores de amplificação na amostra ou micro-organismos insuficientes devido a obstáculos direcionados a coleta, transporte ou manuseio inadequado (TAHAMTAN; ARDEBILI, 2020).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da doença em questão, associado a uma análise comparativa da literatura demonstra que a associação entre a propedêutica e os exames complementares é de extrema relevância para a formulação de hipóteses diante de diagnósticos diferenciais.

Indubitavelmente, deve-se ressaltar que toda semiologia envolvida no caso, desde a anamnese e a avaliação clínica efetiva, tem como objetivo o conhecimento e o raciocínio direcionado pela história do paciente, sobretudo, para esclarecer os diagnósticos diferenciais visto que quanto mais rápido identifica-se a patologia e define-se o tratamento, melhor será prognóstico do paciente.

O desafio do Coronavírus baseia-se na similaridade dos sintomas com outras doenças como a Síndrome Respiratória Aguda, por exemplo, criando então inúmeras hipóteses diagnósticas com sintomas pouco específicos. Sendo assim, leva-se em consideração que essa patologia irá apresentar sintomas de acordo com a variabilidade imunológica presente em cada organismo, bem como a formação de uma série de sinais e sintomas importantes que devem ser analisados criteriosamente para que assim seja feito o diagnóstico final.

Torna-se evidente, portanto, o dever do profissional da área da saúde ao investigar o paciente de forma assídua, não desprezando uma simples cefaleia ou dispneia. Assim como acreditar e estudar as hipóteses diagnósticas diante da queixa do doente. Além disso, não somente demonstrar, mas ser empático

com o paciente diante dos dissímeis prognósticos, além de ser verdadeiro quanto as possibilidades de tratamento.

## 6 REFERÊNCIAS

ARDEBILI, A. T. A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. **Expert Review of Molecular Diagnostics**, Iran, v. 20, n. 5, p. 1-3, abr./2020. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/14737159.2020.1757437>. Acesso em: 14 jul. 2020.

BRASIL. **Ministério da Saúde**. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde - SCTIE. Diretrizes para diagnóstico e tratamento da Covid-19. Publicado em 6 de abril de 2020. Acesso em 17/07/2020. Disponível em: <https://sbim.org.br/images/files/notas-tecnicas/ddt-covid-19-200407.pdf>.

China National Health Commission. **Chinese Diagnosis and Treatment Plan of Covid-19** Patients.; 2020. <http://kjfy.meetingchina.org/msite/news/show/cn/3337.html>.

JORNAL DA USP. **Testes desenvolvidos na USP tornarão diagnóstico da covid-19 mais acessível**. Disponível em: <https://jornal.usp.br/ciencias/testes-desenvolvidos-na-usp-tornarao-diagnostico-da-covid-19-mais-rapido-e-acessivel/>. Acesso em: 14 jul. 2020.

MAGNO, Laio, Et al. **Desafios e propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para COVID-19 no Brasil**. Ciência & Saúde Coletiva. 18/jun/2020. [www.cienciaesaudecoletiva.com.br/artigos/desafios-e-propostas-para-ampliacao-da-testagem-e-diagnostico-para-covid19-no-brasil/17602?id=17602](http://www.cienciaesaudecoletiva.com.br/artigos/desafios-e-propostas-para-ampliacao-da-testagem-e-diagnostico-para-covid19-no-brasil/17602?id=17602). Acessado 13 de julho de 2020.

**Organização Pan-Americana de Saúde**. OPAS Brasil. Folha informativa – COVID-19 (doença causada pelo novo coronavírus), 2020. Disponível em: [https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875). Acesso em 17/07/2020.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS. **Métodos laboratoriais para diagnóstico da COVID-19**. Disponível em: <http://www.sbac.org.br/blog/2020/03/25/metodos-laboratoriais-para-diagnostico-da-covid-19/>. Acesso em: 14 jul. 2020.

U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes First Test for Patient At-Home Sample Collection.** Disponível em: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-first-test-patient-home-sample-collection>. Acesso em: 14 jul. 2020.

Vida Saudável. **Hospital Israelita Albert Einstein.** Especial Novo Coronavírus. Acesso em 17/07/2020. Disponível em: <https://vidasaudavel.einstein.br/coronavirus/exames-para-detectar-covid-19-veja-o-comparativo/>.

World Health Organization (WHO). **Rolling updates on coronavirus disease (COVID-19).** 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-13-coronavirus-2019/events-as-they-happen>. (Acessado em 31/jun/2020).

Xu W, Li J, He X, et al. **The diagnostic value of joint detection of serum IgM and IgG antibodies** to 2019-nCoV in 2019-nCoV infection. *Chinese J Lab Med.* 2020;43: E012-E012.

YELIN, I. *et al.* Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. *Medrxiv*, USA, v. 1, n. 1, p. 1-12, mar./2020. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.26.20039438v1>. Acesso em: 14 jul. 2020.