

Guia para Diagnóstico Laboratorial Covid-19



Laboratório
PASTEUR

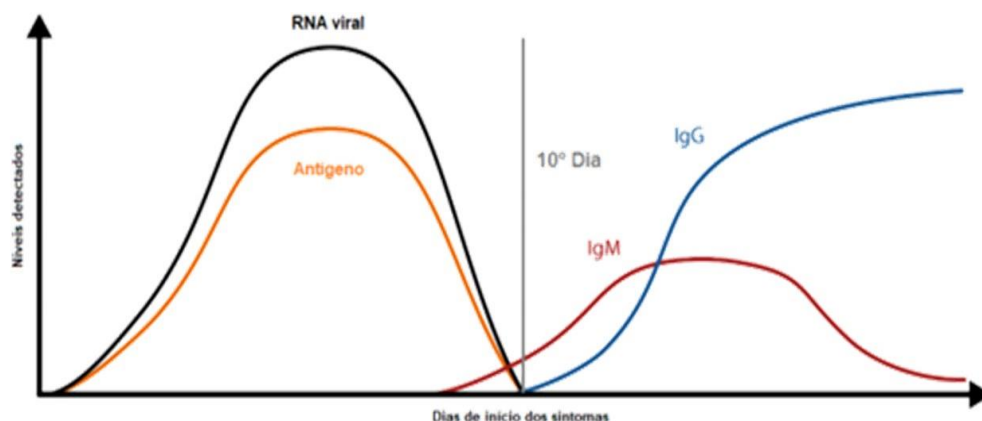
Este Documento foi elaborado para auxiliar a comunidade médica nas requisições de exames para diagnóstico de Covid-19.

Devido à escassez de insumos, o Laboratório poderá exigir requisição médica e justificativa clínica de urgência ou prioridade. Favor consultar a situação atual.

Em caso de dúvidas, favor contactar os profissionais do Laboratório Pasteur.



Testes para Diagnóstico de SARS-nCov2 (COVID-19)



Fonte: COVID-19. Recomendação de uso de exames laboratoriais. Dasa, 2020 (adaptado).

PCR-RT

Padrão Ouro – Swab Naso/Orofaringe

Amplifica material genético do vírus (RNA Viral)

+Apresenta 100% sensibilidade e especificidade antes mesmo do aparecimento de sintomas

- Requer equipamento especializado em Biologia Molecular
- Resultado em aprox. 7 dias úteis para nossa região
- Amostra dependente (Swab Naso/Orofaringe)

Pesquisa de Antígeno por FIA

Método por Imunoensaio Fluorescente (FIA)

Detecta proteína da cápsula viral

+Valor Preditivo Positivo alto : 95% de correlação com PCR
+Resultado em 2 horas

- Coleta a partir do 1º dia de sintomas
- Menos sensível que PCR: 86% sensibilidade
- Amostra dependente (Swab Naso/Orofaringe)

Pesquisa de Anticorpos: IgM e IgG

+ Avalia imunidade, demonstrando epidemiologicamente casos assintomáticos, especialmente não confirmados.
+Alto valor preditivo positivo e negativo: Sensibilidade e especificidade até 100% se coletado a partir do 9º dia.
+Não é amostra dependente (Amostra de Sangue)
+Resultado em 2 horas

-Sem diagnóstico na fase aguda

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Sorologia da COVID-19

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19), causada pelo vírus SARS-CoV-2, foi declarada como pandemia em 11 de março de 2020, de acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS). A doença, de acordo com a OMS, apresenta um período de incubação, ou seja, tempo entre uma pessoa ser infectada e o início dos sintomas, variando entre 1 e 14 dias, com uma média de 5 dias para início dos sintomas (HUANG et al. 2019; WHO, 2020).

Os sintomas mais comuns, como febre, tosse, dores musculares (mialgias) e dificuldades para respirar (dispneia), podem durar, em média, até 14 dias. Além desses, dores de garganta, de cabeça, diarreia e vômitos, menos comuns, também podem ocorrer (CDC, 2020; CHEN et al. 2020).



Fonte: Ministério Público de Sergipe

O diagnóstico pode ocorrer pela detecção molecular do material genético do vírus, pela técnica de reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR) e detecção de antígenos (proteínas) do vírus ou anticorpos do organismo (IgM e IgG). A janela imunológica, ou seja, o período que compreende o momento da infecção, evolução ou não de sintomas (assintomático) e produção de anticorpos, apresenta um desafio ao diagnóstico, especificamente em razão do longo período de incubação e progressão dos sintomas (GUO et al. 2020; HAVERI et al. 2020; WHO, 2020).

A RT-PCR é o método padrão ouro para o diagnóstico, no entanto, estudos relataram sensibilidade variável para as diferentes amostras biológicas utilizadas para detecção do SARS-CoV-2 (WANG et al. 2020). Um estudo que avaliou 1070 amostras de 250 pacientes com COVID-19, observou os seguintes valores de sensibilidade para as diferentes amostras testadas por RT-PCR:



Tabela. Resultados da Detecção em Amostras Clínicas por RT-PCR

Amostras e quantidades	Lavado Broncoalveolar (n = 15)	Biopsia de fibrobroncoscopia (n = 13)	Escarro (n = 104)	Swabs Nasais (n = 8)	Swab de nasofaringe (n = 398)	Fezes (n = 153)	Sangue (n = 307)	Urina (n = 72)
Resultados Positivos, N. (%)	14 (93)	6 (46)	75 (72)	5 (63)	126 (32)	44 (29)	3 (1)	0
Cycle threshold, média (SD)	31.1 (3.0)	33.8 (3.9)	31.1 (5.2)	24.3 (8.6)	32.1 (4.2)	31.4 (5.1)	34.6 (0.7)	ND
Range	26.4-36.2	26.9-36.8	18.4-38.8	16.9-38.4	20.8-38.6	22.3-38.4	34.1-35.4	
95% CI	28.9-33.2	29.8-37.9	29.3-33.0	13.7-35.0	31.2-33.1	29.4-33.5	0.0-36.4	

Abreviação: ND, Sem dados.

Fonte: WANG, W. et al. 2020. *(adaptado)*.

De acordo com o CDC, a PCR negativa não deve ser utilizada como único critério de decisão. Como o intervalo de tempo para o pico dos títulos virais na COVID-19 ainda é desconhecido, o tempo ótimo para a coleta das amostras biológicas para o diagnóstico da infecção não foi estabelecido. Dessa forma, coletas seriadas em dias e com tipos de amostras diferentes podem ser necessários para confirmar o diagnóstico. Da mesma forma, a coleta e transporte da amostra, bem como a qualidade da extração do RNA também são fatores que influenciam no resultado (CDC, 2020; ZHANG et al. 2020; KAI-WANG-TO, et al. 2020).

Nesse contexto, os testes de anticorpos poderiam ser utilizados para complementar o diagnóstico em caso de RT-PCR negativos, além de, posteriormente, indicarem o status imune da população. Até o momento, não existem recomendações para testes sorológicos dentre os principais órgãos e protocolos utilizados no mundo, como da própria OMS, do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos e China, além da Universidade de Charité, na Alemanha (CORMAN et al. 2019; CDC, 2020).

Nesse sentido, determinar o melhor momento para testes sorológicos (detecção de anticorpos) é importante para o manejo e conduta clínica, bem como para auxiliar nos dados epidemiológicos de transmissão e disseminação da doença (KAI-WANG-TO et al. 2020). Essa breve revisão busca sugerir, embasado nos estudos científicos mais recentes, um período de testes mais adequado para identificação de anticorpos IgM e IgG em amostras clínicas de pacientes com ou sem suspeita de COVID-19. O resumo dos estudos se encontra na tabela a seguir:

Tabela 2. Resultados de detecção de anticorpos em estudos de sorologia para COVID-19.

Estudo	Amostras	Resultados encontrados
Guo et al (2020)	82 pacientes confirmados 58 casos prováveis	< 7 dias do início dos sintomas: Anticorpos não detectáveis 8-14 dias do início dos sintomas: Anticorpos detectáveis 15-21 do início dos sintomas: Detecção de IgG



Wolfel et al (2020)	9 pacientes confirmados por RT-PCR	3-6 dias do início dos sintomas: pacientes sem níveis detectáveis de anticorpos A partir do 9 dia de início sintomas: anticorpos IgM e IgG detectáveis >14 dias do início dos sintomas: detecção de anticorpos neutralizantes
Zhang et al (2020)	16 pacientes confirmados por RT-PCR	1 dia do início dos sintomas: sem anticorpos 10 dias do início dos sintomas: anticorpos detectáveis
Haveri et al (2020)	1 paciente confirmado por RT-PCR	4 dias do início dos sintomas: Não detectáveis 9-10 dias do início dos sintomas: Anticorpos neutralizantes detectados
Kai-Wang-To et al (2020)	16 pacientes confirmados por RT-PCR	Anticorpos detectáveis 10 dias após o início dos sintomas
Zhao et al (2020)	173 pacientes confirmados	8-14 dias após o início dos sintomas: Anticorpos detectáveis < 7 dias do início dos sintomas: PCR com maior sensibilidade

Guo et al. (2020), avaliou o perfil de amostras clínicas de 82 pacientes com casos confirmados e 58 casos prováveis (PCR negativa mas com sintomas típicos). Nesse estudo, os níveis de anticorpos tanto IgM quanto IgG foram comparados em janelas de 0-7, 8-14 e 15-21 dias. Os resultados para IgM aumentaram entre 8 e 14 dias após o início dos sintomas, quando comparado com os primeiros 7 dias de sintomas. No entanto, os níveis de IgG continuam a aumentar entre 15-21 dias, até se estabilizarem após o 21º dia após o início dos sintomas (GUO et al. 2020).

Ainda, 18 amostras de pacientes confirmadas por PCR apresentaram resultados IgM não reagentes. Dentre estas, 13 foram coletadas antes do 7º dia de sintomas, o que reforça a um período sugerido mais tardio para os testes. Ademais, dois casos graves da doença, de amostras coletadas nos 19º e 22º dias de sintomas, apresentaram uma detecção tardia dos anticorpos, o que corrobora também a uma possível falha ou resposta tardia à infecção (GUO et al. 2020).

Wolfel et al. (2020), havia demonstrado soroconversão, ou seja, produção de anticorpos, ocorrendo entre 6-12 dias, das 31 amostras de soro avaliadas, ambas negativas no teste de RT-PCR. A média, das amostras que obtiveram sucesso no isolamento do vírus, ou seja, que conseguiram cultivar o vírus em células no laboratório, a média do período de soroconversão foi de 9,78 dias (WOLFEL et al. 2020).

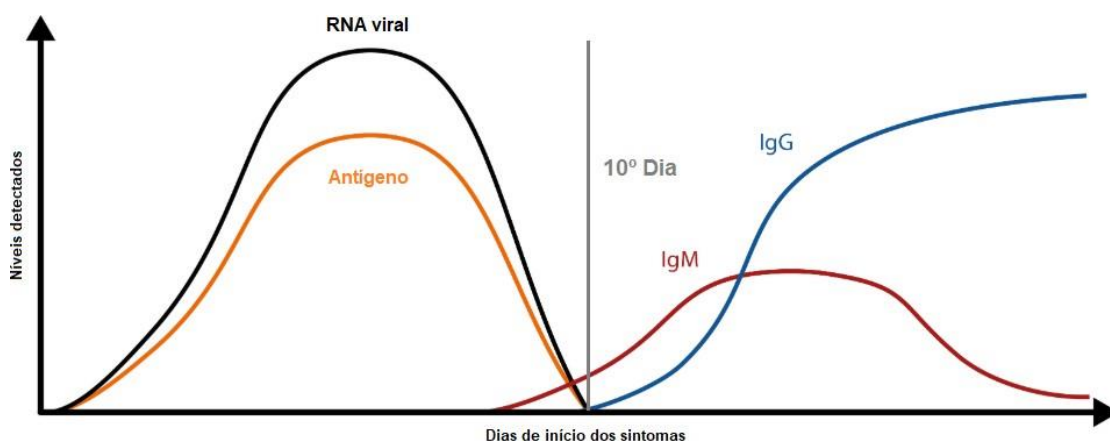
Estudos de Haveri et al. (2020), com amostras de uma paciente na Finlândia, avaliaram a soroconversão coletando amostras no 4º, 9º, 10º e 20º dias. Somente entre 9-10 dias foram detectados anticorpos. Os dados também foram compatíveis com observações de Zhao et al. (2020), que avaliaram a soroconversão de 173 amostras de pacientes hospitalizados com infecção confirmada por SARS-CoV-2. Neste estudo, a soroconversão se inicia após a primeira semana de sintomas, em média após 11-12 dias (ZHAO et al. 2020).



Casos mais graves se mostraram novamente com uma soroconversão mais tardia, em média do 14 até o 16º dia (Zhao et al. 2020). Esses dados também são similares ao trabalho de Zhang et al. (2020), em que a detecção da soroconversão de anticorpos IgM e IgG, de amostras de 39 pacientes admitidos no hospital pulmonar de Wuhan. Destes, 16 pacientes que receberam tratamento médico no hospital foram avaliados, apresentando títulos baixos ou indetectáveis de anticorpos por imunoenaios enzimáticos no 10º dia após sintomas, sendo todos detectados para IgG no 15º dia (ZHANG et al. 2020).

Kai-Wang-To et al. (2020), também avaliou 23 amostras confirmadas para COVID-19 de pacientes admitidos em dois hospitais de Hong Kong, na China. Dentre eles, um aumento nos níveis de anticorpos detectados ocorreu a partir do 10º dia de sintomas. Desses, 16 pacientes tiveram amostras coletadas após 14 dias de sintomas, com sensibilidade ainda maior para IgM e IgG, também por imunoenaios enzimáticos (KAI-WANG-TO et al. 2020).

Compilando esses dados e, até o momento, sem dados oficiais dos órgãos internacionais para os testes sorológicos, além do desafio na janela imunológica da infecção por SARS-CoV-2, algumas questões podem ser ressaltadas para sugerir, por exemplo, um período de interesse para realização dos testes. **Nesse sentido, sugere-se que a detecção sorológica pode ser feita a partir do 10º dia de início de sintomas e, especificamente para casos mais graves, o período para avaliação pode ser estendido para além do 14º dia de início dos sintomas.**



Fonte: COVID-19. Recomendação de uso de exames laboratoriais. Dasa, 2020 (*adaptado*).

Estudo Realizado pela ECO DIAGNÓSTICA

Vinicius Pereira – Responsável Técnico

Telefone: (31) 97150-0703

E-mail: vinicius.pereira@ecodiagnostica.com.br

Laboratório Pasteur Ltda

Matriz: Rua Pernambuco, 1318, Paranaíba – PR

Fone: (44) 3421-4141.

Celular/Whatsapp: (44) 99947-1999

Site: <http://www.labpasteur.net>

Dr. Eduardo Ferreira Ribeiro – Responsável Técnico. CRBM6-PR 0016.

Referências

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Symptoms & Testing. CDC. 2020.
2. World Clinical management of severe acute respiratory infection when novel coronavirus (COVID-19) infection is suspected. Interim guidance. WHO. 2020
3. Chen N. et al. Epidemiological and Clinical Characteristics of 99 Cases of 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Pneumonia in Wuhan, China. The Lancet, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30211-7.
4. Huang, C. et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. The Lancet, 2020. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
5. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance. WHO. 2020.
6. WANG, W. et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. Jama, p. 3-4, 2020; DOI:10.1001/jama.2020.3786
7. Woelfel, R. et al. Clinical presentation and virological assessment of hospitalized cases of coronavirus disease 2019 in a travel-associated transmission cluster. medRxiv 2020.03.05.20030502; DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.05.20030502>
8. Zhao, J. et al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients of novel coronavirus disease 2019. medRxiv 2020.03.02.20030189; DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.03.02.20030189>
9. Haveri, A. et al. Serological and molecular findings during SARS-CoV-2 infection: the first case study in Finland, January to February 2020. Euro Surveill. 2020;25(11). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.11.2000266>
10. Kai-Wang-To, K. et al. Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. The Lancet Infectious Diseases. 2020; DOI: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1
11. Zhang, W. Molecular and serological investigation of 2019-nCoV infected patients: implication of multiple shedding routes. Emerging Microbes & Infections, 9:1, 386-389, 2020. DOI: 10.1080/22221751.2020.1729071
12. Guo, L. et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). Clin Infect Dis. 2020. DOI: 10.1093/cid/ciaa310.
13. Corman, V. M. et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
14. COVID-19. Recomendação de uso de exames laboratoriais. 2020. Comitê Técnico Dasa de Covid-19. Dasa.



Laboratório
PASTEUR

(44) 3421 – 4141  (44) 99974-1999

 /labpasteur  @pasteur1979

<http://www.labpasteur.net>

Paranavaí – Alto Paraná – Nova Esperança