



Atualização Diagnóstica para a Covid-19

*Thalia Fernanda Araújo Costa¹; Vanessa Fernandes Mendonça¹;
Thalita Grazielly Santos¹; Karina Maciel Pádua²*

Resumo: No final de 2019, o ciclo midiático foi tomado pelas notícias sobre o coronavírus, logo o mundo inteiro foi envolto pela pandemia da COVID-19. Segundo o New York Times, atualmente, o número é de 4.297.830 mortes no âmbito mundial, 202.872.928 total de casos. Já no Brasil, até o momento, foram registrados 20.165.672 casos. Apesar da grande emergência desta pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 em nosso país e no mundo, várias opções de metodologias diagnósticas têm sido criadas para nos auxiliar na detecção deste agente, contribuindo para evitar a sua disseminação, detectar quem já teve a doença e, em alguns casos, favorecer o tratamento precoce. Este trabalho tem como objetivo detalhar cada um destes métodos, descrevendo como cada um deles funciona no diagnóstico da COVID-19. Este trabalho trata-se de um estudo bibliográfico, descritivo do tipo revisão integrativa da literatura, partindo do levantamento bibliográfico e análises de dados bibliográficos disponíveis de pesquisas anteriores.

Palavras-chave: COVID-19. SARS-CoV-2. Coronavírus. Técnica Reação em Cadeia da Polimerase. Testes sorológicos. Diagnóstico laboratorial.

Diagnostic Update for Covid-19

Abstract: At the end of 2019, the media cycle was taken over by the news about the coronavirus, soon the whole world was enveloped by the COVID-19 pandemic. According to the New York Times, currently, the number is 4,297,830 deaths worldwide, 202,872,928 total cases. In Brazil, so far, 20,165,672 cases have been registered. Despite the great emergence of this pandemic by the virus caused by SARS-CoV-2 in our country and in the world, several options of diagnostic methodologies have been

¹ Graduação em Biomedicina. Universidade do Estado de Minas Gerais/UEMG.

² Graduação em Biomedicina pelo Centro Universitário Barão de Mauá. Especialização em Análises Clínicas e em Citologia Oncótica pela Faculdade Unyleya. Mestra em Desenvolvimento Regional e Meio Ambiente pela Universidade do Estado de Minas Gerais/UEMG. ORCID: 0000-0002-7104-7450. karina.padua@uemg.br.

treated to help us detect this agent, helping to prevent its spread, detecting those who have already had a disease and, in some cases, favoring early treatment. This paper aims at each of these methods, describing how each one of them works in the diagnosis of COVID-19. This work is a bibliographic study, descriptive of the type of integrative literature review, starting from the bibliographic survey and analysis of bibliographic data available from previous researches.

Keywords: COVID-19. SARS-CoV-2. coronavírus, Polymerase Chain Reaction Technique. Serological tests.

Introdução

Em dezembro de 2019, um surto de pneumonia que se instalou na cidade de Wuhan, China, acabou chamando a atenção de todo o mundo. Partindo de investigações preliminares, foi constatado que a patologia em questão se tratava de um novo tipo de coronavírus, posteriormente ficando conhecido como SARS-CoV-2 ou doença COVID-19 (NETO, 2021).

O coronavírus faz parte de uma família viral que causa infecções respiratórias em seres humanos, compreendendo-se como uma das principais causas de resfriado comum e dificilmente causando doenças mais graves. Atualmente, no mundo, há sete tipos de coronavírus, sendo SARS-CoV-2 pertencente ao subtipo 2 (MAGNO, 2020). O SARS-CoV-2 é o terceiro tipo a transpor a barreira entre as espécies e infectar seres humanos. Seu genoma está concentrado em uma única fita de RNA e para acentuar sua patogenicidade, em sua superfície há proteínas as quais facilitam seu ingresso nas células hospedeiras, sendo uma delas, a glicoproteína de pico conhecida como proteína S (VIEIRA, 2020).

Este vírus é responsável por algumas infecções respiratórias tanto em humanos, quanto em alguns animais, porém a infecção é geralmente de intensidade leve a moderada. Alguns tipos podem vir a causar doenças mais graves como a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) ou SARS (do inglês, *Severe Acute Respiratory Syndrome*), que ocorreu em 2002 e a síndrome respiratória do Oriente Médio ou MERS (do inglês, *Middle East respiratory syndrome*) (VIEIRA, 2020).

Com um aspecto clínico variado, o coronavírus pode se apresentar de forma assintomática ou com sintomas graves, podendo também levar o paciente a óbito (REIS, 2020). Segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde) cerca de 80% dos pacientes assintomáticos ou com sintomas leves, aproximadamente 20% dos casos identificados precisam de um

atendimento especializado hospitalar. Os sintomas mais comuns podem variar em: perda de paladar e olfato, de resfriado comum até síndrome gripal, sendo que, nesta última, pode suceder uma evolução para um quadro respiratório agudo definido por estado febril, sendo associado a dor de garganta, dor de cabeça, tosse, coriza, pneumonias severa, que pode levar até mesmo ao óbito (NOGUEIRA, 2020).

Contudo, é importante salientar que, diante ao quadro de preocupação instalado no mundo, várias atitudes foram implementadas para o controle da disseminação do vírus e da doença entre a população mundial. Uma das principais atitudes adotadas para o controle da dissipação do vírus, foi o uso de máscaras e evitar a circulação nas ruas e em ambientes caracterizados pela grande concentração de pessoas (NOGUEIRA, 2020).

Estudos epidemiológicos mostraram que a transmissão do vírus ocorre através de gotículas e aerossóis (micropartículas de secreção respiratória que são transportadas pelo ar e alcançam maior distância de propagação) de pessoas infectadas, assim como o contato com superfícies contaminadas. Com isso, o controle do fluxo de pessoas foi imensamente importante para o controle de transmissão do vírus. O tempo de incubação do vírus em um recém contaminado é cerca de 14 dias, portanto, durante esse período, mesmo que assintomático, o paciente pode vir a transmitir o vírus para outras pessoas, contaminando-as e contaminando o ambiente (DIAS, 2020).

Com a ausência de medicamentos próprios, vacinas terapêuticas específicas e conhecimentos aprofundados, é de suma importância a detecção da doença em seu estágio inicial para que o isolamento social do paciente possa ser feito o mais breve possível. Com isso, testes diagnósticos específicos foram desenvolvidos com urgência para a identificação prévia dos pacientes infectados, a fim de confirmar os casos suspeitos, realizar a triagem dos pacientes e realizar a vigilância epidemiológica do vírus nos municípios, estados e países (REIS, 2020). As principais técnicas de diagnóstico laboratorial para a identificação do coronavírus atualmente são: PCR em Tempo Real (qPCR) e testes rápidos sorológicos, sendo estes aqueles que identificam os anticorpos presentes no soro do indivíduo, e também tem aqueles que determinam a presença do antígeno na amostra. (SOUSA, 2020).

Atualmente as técnicas moleculares são as mais adequadas, visto que elas podem direcionar e identificar patógenos específicos. Para o desenvolvimento de técnicas moleculares, há a necessidade de um entendimento aprofundado sobre as características genéticas, patogênicas e fisiológicas do vírus. Outros tipos de testes mensuram as respostas de anticorpos do

organismo ao vírus, ou a concentração de antígeno do vírus no organismo humano pelo soro sanguíneo (UDUGAMA *et al.*, 2020).

Visto a forma como a pandemia está se alastrando, é de extrema importância a utilização de métodos diagnósticos para o auxílio da detecção do vírus, contribuindo para a redução de sua dispersão, e também para a erradicação da doença (NOGUEIRA, 2020).

Justificativa

Mesmo tendo seu início em dezembro de 2019 e atualmente tendo vacinas específicas no mercado, a pandemia do coronavírus segue sendo uma das principais preocupações no mundo. De acordo com o Observatório COVID-19 da Fiocruz, em 2021, foi identificada no Amazonas uma nova variante do vírus SARS-CoV-2, a variante P1 (LANG, 2021). A variante denominada P1 apresenta uma soma de várias mutações. Pode-se notar que após a identificação desta variante as autoridades de saúde pública alarmaram sobre o risco de uma disseminação mais rápida e um agravamento nos resultados clínicos causados pela doença da COVID-19. Em estudos originais, estabeleceram que a variação da P1 pode ser aproximadamente entre 1,4 a 2,2 vezes mais transmissível que suas antecessoras, isso pode ser explicativo para a rápida piora da situação epidemiológica no Amazonas (FREITAS, 2021).

Com isso, os exames laboratoriais ainda seguem sendo de grande importância para o diagnóstico precoce da infecção em seu período inicial, oferecendo um retrato rápido da disseminação das variantes para tomada de decisão no enfrentamento e erradicação da pandemia (SOUSA, 2020). Sendo assim, este estudo busca enriquecer a literatura científica neste âmbito da saúde, elucidando os conhecimentos sobre os métodos.

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão de literatura sobre as técnicas imunológicas e moleculares para a realização do diagnóstico da COVID-19. Para isso foi necessário também: a) Descrever a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR); b) Elencar a importância da qPCR com o contexto pandêmico; c) Detalhar os tipos de testes sorológicos de anticorpos e de antígenos; e d) Enumerar a importância do fator tempo e da qualidade da amostra para os exames.

Revisão de Literatura

Covid-19

O novo coronavírus 2019 (COVID-19), conhecido cientificamente como SARS-COV-2, é um vírus envelopado composto por RNA de fita simples positiva, com cerca de 50 a 200 nm, e o mais novo tipo de coronavírus que infecta humanos identificado (SOUTO, 2020). Assim como os outros coronavírus, este tipo apresenta cerca de quatro proteínas que compõem sua estrutura, sendo elas: proteína do envelope (E), a proteína Spike (S), a proteína do nucleocapsídeo (N) e a proteína de membrana (M) (BOSCH *et al.*, 2003). Entre essas proteínas, a conhecida como Spike, proporciona a interatividade com a célula humana possibilitando a junção do vírus com a sua membrana plasmática (WU, C. *et al.*, 2020).

Visto que é um RNA vírus de sentido positivo, o vírus desempenha um papel de RNA mensageiro, sendo traduzido pelos ribossomos da célula hospedeira, em fita simples. É de conhecimento que o comprimento total do genoma do SARS-CoV-2 é de 30 Kb (kilobase), dispendo de uma região não codificante do terminal 5', uma região de codificação 1a/b da caixa de leitura aberta ORF (ORF - quadro de leitura aberto, do inglês “open reading frame”) e uma região não codificante do terminal -3' (YANG; WANG, 2020).

Quanto aos processos de replicação do vírus, a poliproteína codificada na região ORF1a/b da proteína não estrutural é capaz de ser cortada por 2 proteases virais a 3CLpro (conhecida como Papaína protease) e PLpro (conhecida como Quimiotripsina protease) do vírus ocorrer a formação da RNA polimerase e helicase dependente de RNA, para orientação da que replicação, transcrição e tradução do genoma viral. A proteína Spike tem a capacidade de se ligar especificamente ao receptor da célula hospedeira, sendo este o principal mecanismo da proteína viral para invadir células no organismo do hospedeiro. Contudo, proteínas M e E, por sua vez, estão envolvidas na formação do envelope viral, enquanto a proteína N está envolvida na montagem do vírus (ZUMLA *et al.*, 2016).

O SARS-CoV-2 possui o que é conhecido como RBD (domínio de ligação ao receptor, do inglês “receptor binding domain”), ele faz o uso da molécula ACE2 humana como receptor de entrada. (LAN *et al.*, 2020).

Segundo Shang *et al.* (2020) em seus estudos, o morcego é um transmissor em potencial, mas não o responsável pelo surto em humanos. Pode-se notar, que o RBD do SARS-CoV-2 se

liga mais vigorosamente à ACE2 humana do que o RBD do SARS-CoV, sugerindo-se que um coronavírus de morcego, conhecido como RaTG13, possa também utilizar o receptor ACE2 para invadir células humanas. Sendo assim, a responsabilidade pelo alto grau de propagação da doença é devido à infecção de humano para humano (ZHU *et al.*, 2020).

As manifestações clínicas da infecção pela COVID-19, mostram-serelacionadas com infecções do trato respiratório, sendo comum a apresentação de febre, tosse, dispneia e mialgia. Dentre tais sintomas, a febre é o mais comum. Além disso, sintomas gastrointestinais, como diarreia e náuseas, são menos recorrentes em infecções por SARS CoV-2. Sintomas de trato superior, como espirro, rinorréia e dor de garganta são incomuns nos pacientes afetados (BEZERRA, 2020)

Os sintomas respiratórios aparentam estar relacionados à entrada do vírus na célula através dos receptores ACE2, infectando principalmente as células epiteliais que revestem os alvéolos pulmonares. Estudos recentes indicam que há uma multiplicação do vírus na mucosa da via aérea superior, em seguida, há uma maior replicação na via aérea inferior. A infecção por SARS-CoV-2 provoca dano celular, provocando a liberação de citocinas pró-inflamatórias e propiciando a hipercitocinemia, ou seja, uma “tempestade de citocinas”. As lesões agudas nos pulmões têm sido correlacionadas à diminuição de receptores ACE2, o que proporciona uma desregulação no sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), causando um agravamento da inflamação (JIN *et al.*, 2020b; ROTHAN; BYRAREDDY, 2020; MEHTA *et al.*, 2020).

Os casos da COVID-19 podem se aprender de forma sintomática ou assintomática (OMS, 2020). No primeiro caso citado, o tempo de incubação é cerca de 5 dias, mas pode ocorrer uma variação de 2 a 14 dias (GUAN *et al.*, 2020; LI *et al.*, 2020). A infecção sintomática pode ser: a) leve, ausência de pneumonia ou presença leve desta; b) grave, manifestando dispneia, hipóxia ou mais de 50% de comprometimento do pulmão em exame de imagem; ou c) crítica, apresentando choque séptico, falha respiratória ou falência múltipla de órgãos (CHAN *et al.*, 2020; WU; MCGOOGAN, 2020).

Segundo a OMS, a maioria dos indivíduos com infectados com o SARS-CoV-2 desenvolve um quadro leve ou até mesmo sem complicações da doença podendo ficar isolados em casa; cerca de 14% desenvolvem doença grave requerendo hospitalização e suporte de oxigênio; e 5% requer admissão em unidade de tratamento intensivo (OMS, 2020). Além disso, de acordo com Organização Mundial da Saúde (OMS), a recuperação pode acontecer em torno de 15 dias, em casos leves, e de 3 a 6 semanas nos casos mais graves (OMS, 2020).

Quando se diz o grau de malignidade da doença, indivíduos de qualquer idade podem desenvolver quadros graves da doença, porém adultos com idade avançada ou comorbidades médicas costumam ser os mais atingidos (WU; MCGOOGAN, 2020). No caso de crianças, a infecção sintomática parece ser pouco comum, acarretando, geralmente, de forma leve, embora quadros graves da COVID-19 já tenham sido descritos na literatura (CAI *et al.*, 2020; CUI *et al.*, 2020). Certas comorbidades têm sido associadas ao quadro grave da COVID-19, sendo elas: a diabetes mellitus, hipertensão, doenças cardiovascular, pulmonar e renal crônicas, e câncer (LIANG *et al.*, 2020; WU; MCGOOGAN, 2020; ZHOU, F. *et al.*, 2020). Além das referidas, a obesidade grave, o imuno comprometimento e doença hepática são fatores de risco para o desenvolvimento de quadros graves da infecção viral apresentada (CDC, 2020).

No caso dos pacientes sintomáticos, o sintoma inicial apresentado pela infecção da COVID-19, com frequência, é a pneumonia com quadro de dispneia, tosse, febre e infiltrado inflamatório nos pulmões (GUAN *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2020). Porém, somente com os sintomas clínicos, a infecção não pode ser distinguida, diversas infecções virais respiratórias, possuem os mesmos sintomas, tornando-se não específicas.

Quando se fala sobre o diagnóstico da COVID-19, este pode ser realizado, de maneira prévia, por meio de uma avaliação da teia de sintomas e histórico do paciente, juntamente aos testes rápidos e, também, exames de imagem (AI *et al.*, 2020; AMANAT *et al.*, 2020; MCINTOSH, 2020). Contudo, quanto se trata do diagnóstico final, este só pode ser obtido, através de testes moleculares com a pesquisa da presença do material genético viral nas amostras biológicas do paciente (OMS, 2020h).

Atualmente, existem diversos protocolos internos e comerciais para detecção do material genético do SARS-CoV-2 oferecidos pela OMS que utilizam a Reação em Cadeia da Polimerase com Transcriptase Reversa (RT-PCR) (OMS, 2020). Estes testes têm sido executados, com mais frequência, em amostras cujo o material seja secreção das vias aéreas superiores e de sangue e provêm resultados em algumas horas ou dias (CDC, 2020)

Ainda não existem indicações concretas para a recomendação de tratamento específico para o SARS-CoV-2. Porém, alguns medicamentos potencialmente eficazes estão sendo estudados por meio de ensaios clínicos (ROSA; SANTOS, 2020; SINGHAL, 2020).

Pacientes que apresentam quadros leves da infecção, é indicado um manejo de suporte não farmacológico, sendo este: repouso, hidratação, alimentação adequada e tratamento

farmacológico sintomático com antipiréticos e analgésicos, não sendo necessária terapia hospitalar (BRASIL, 2020; SINGHAL, 2020).

Contudo, o profissional deve monitorar clinicamente o paciente e informá-lo da possibilidade da evolução para os sintomas graves, deve também orientar o paciente a procurar atendimento hospitalar caso isso venha a ocorrer, sendo responsabilidade da unidade básica de saúde (UBS) o encaminhamento para níveis de cuidados elevados dentro do sistema público de saúde. Mesmo se o paciente não apresentar agravos, é indispensável o isolamento social para que a fim de conter a disseminação do viral (BRASIL, 2020; SINGHAL, 2020).

Em pacientes cujo os sintomas sejam graves devido a infecção, como em adultos e crianças que apresentem baixa saturação, a oxigenoterapia é a principal intervenção terapêutica (BRASIL, 2020; MURTHY; 2020). Caso a saturação esteja extremamente baixa, há o fornecimento de oxigênio através de pontas nasais, máscara facial, cânula nasal de alto fluxo ou ventilação mecânica, seja invasiva ou não invasiva. O uso de antibióticos e antifúngicos são fundamentais se houver suspeita ou confirmação de outras infecções secundárias (SINGHAL, 2020; WHO, 2020).

Assim como diversas questões sobre o tratamento do COVID-19, o uso de corticosteróides ainda não demonstra eficácia comprovada, sendo preciso mais

estudos clínicos mais aprofundados para uma melhor avaliação de sua eficiência em pacientes diagnosticados ou outras pneumopatias virais, como SARS (síndrome respiratória aguda grave) e MERS (síndrome respiratória do oriente médio) (MURTHY; 2020; RUSSELL; 2020; WHO, 2020). Todavia, já foram encontradas informações do uso desses medicamentos em baixa ou moderada dose em pacientes com quadros graves de COVID-19 (BEZERRA, 2020)

Quando se trata do uso de antibióticos, muitos centros de saúde executam a administração inadequada no tratamento de pacientes com COVID-19, de acordo com a OMS, isso deve ser evitado. A utilização de antibióticos empíricos deve ser baseada no diagnóstico clínico de pneumonia adquirida na comunidade, pneumonia associada à assistência médica ou sepse (WHO, 2020).

Para a contenção do viral, foram desenvolvidas várias estratégias que propunham prevenir a transmissão da COVID-19, dentre as quais podemos destacar as principais: a) Lavar as mãos com frequência (com água e sabão, ou desinfetante à base de etanol a pelo menos 60% ou isopropanol a 70%) e evitar tocar na boca, nariz ou olhos antes disso (CDC, 2020); b) limpeza de superfícies com álcool 70%, (KAMPF *et al.*, 2020); c) utilização de máscaras faciais,

principalmente por quem está infectado ou cuida de alguém que esteja (OMS, 2020); d) cobertura do nariz e boca com o cotovelo dobrado ou um lenço de papel ao tossir ou espirrar (OMS, 2020); e) distanciamento físico entre os indivíduos através de métodos que incluem quarentenas, restrições de viagem, fechamento de escolas e locais de aglomeração (OMS, 2020); e f) isolamento voluntário para aqueles diagnosticados com a doença, com suspeita de infecção ou que viajaram recentemente para um país ou região com transmissão generalizada (CDC, 2020).

Outras estratégias de controle de transmissão da infecção são: a contenção, a mitigação e a supressão. A contenção acontece nos primeiros estágios do surto, pretendendo rastrear e isolar os pacientes infectados, por exemplo: cuidado com as pessoas que entram no país vindas de regiões onde já haja o surto (OMS, 2020); a mitigação do qual objetivo é reduzir o pico da pandemia e o risco de sobrecarregar do sistema de saúde, por exemplo: paralisação de aulas, diminuição da circulação de pessoas e cancelamento de eventos (ZHANG; QIAN, 2020); e a supressão, que visa reverter o crescimento pandêmico, diminuindo o número de casos a baixos níveis por exemplo: quarentena obrigatória da população e fiscalização rígida do governo (FERGUSON *et al.*, 2020).

Alguns especialistas argumentam que a supressão é o plano de mais eficiente controle da pandemia da COVID-19, visto que este pode reduzir, em aproximadamente dois terços, a demanda de assistência médica no pico das infecções (FERGUSON *et al.*, 2020). Entretanto, os valores socioeconômicos da inserção dessa estratégia ainda são bastante elevados o que torna inacessível para todos os países afetados.

Pandemia do COVID-19

Os primeiros casos da COVID-19 aconteceram no mês de dezembro do ano de 2019 na cidade de Wuhan, conhecida como a capital da província de Hubei, na China. Considera-se que o contágio teve origem depois da exposição ao mercado atacadista de frutos do mar de Huanan, o qual se associou ao comércio de carne de animais para consumo humano e a infecção pelo SARS-CoV-2. Baseado nisso, passou-se a apresentar casos de pneumonia de etiologia desconhecida e, em seguida, o novo coronavírus foi isolado pela autoridade chinesa. Em virtude do acréscimo significativo no número de indivíduos infectados, incluindo aqueles que não tiveram exposição ao comércio, pressupôs-se da probabilidade de transmissão inter-humana,

incluindo os pacientes assintomáticos (AMMAD; BOPANA, 2020; SINGHAL, 2020; WU *et al.*, 2020; ZHENG, 2020).

Após o contato com humanos, o SARS-CoV-2 apresentou uma grande capacidade de disseminação com o número básico de reprodução (R0) referindo-se em torno de 2,4, apresentando variações desentendendo da população analisada (LIU *et al.*, 2020; ADHIKARI *et al.*, 2020; PHELAN, 2020)

Em uma preocupação mundial, a OMS, juntamente com a China, determinou que a pandemia no país obteve o seu pico entre o final de janeiro e início de fevereiro de 2020 (OMS, 2020) apresentando uma taxa de novos casos diminuída no início de março (MCINTOSH, 2020). Contudo, os casos começaram a ser confirmados em várias partes do mundo e vinham-se aumentando constantemente somando, aproximadamente, 229.921.247 casos confirmados dos quais 4.715.747 mortes já foram registradas (WORLDMETER, 2020). Dentre os países mais afetados pela COVID-19 estavam os Estados Unidos (EUA), Brasil, Rússia, Espanha, Reino Unido, Itália, Índia, França, Alemanha e Peru. De acordo com o Painel Geral do Coronavírus pelo Ministério da Saúde, atualmente, o Brasil segue com o número de 21.283.567 casos confirmados e 592.316 mortos (SHOUTO, 2020.)

Da premissa que o indivíduo se infecta com o vírus, ele é capaz de transmitir a doença por um período que ainda é desconhecido visto que a maioria das informações a respeito dessa questão deriva-se de estudos que avaliam o RNA viral cuja detecção não indica, necessariamente, a presença do vírus no organismo (MCINTOSH, 2020). Todavia, considerando-se essa relação, a transmissão assemelha-se ter mais chances de acontecer em estágios iniciais da doença, contando que há maiores níveis de RNA viral nas amostras respiratórias de indivíduos infectados, principalmente logo após o início dos sintomas (ZOU *et al.*, 2020).

Com isso, testes diagnósticos específicos foram desenvolvidos com urgência para a identificação prévia dos pacientes infectados, a fim de confirmar os casos suspeitos, realizar a triagem dos pacientes e realizar a vigilância epidemiológica do vírus nos municípios, estados e países. As principais técnicas de diagnóstico laboratorial para a identificação do coronavírus atualmente são: PCR em Tempo Real (qPCR) e testes rápidos sorológicos (BRASIL, 2020).

Além disso, ferramentas de diagnóstico têm sido cruciais para o acompanhamento do paciente com sintomas da COVID, servindo de apoio aos médicos para a tomada de decisões

no que se refere à prevenção, diagnóstico, tratamento e prognóstico de um indivíduo acometido pelo SARS-CoV-2.

Diagnóstico COVID-19

O diagnóstico da COVID-19 é complexo e compreende a necessidade de conhecimentos quanto aos tipos de exames e suas particularidades. Existem dois testes diagnósticos disponíveis atualmente: o molecular e o sorológico, ou imunológico. Ambos possuem suas características específicas, com instruções diferenciadas, dependendo cada um possui as suas características específicas, com indicações diferenciadas, dependendo do avanço da doença e da complexidade clínica que o paciente indica (SOUSA, 2020)

Reação em Cadeia Da Polimerase por Transcriptase Reversa (RT-PCR)

Nos anos 80, um bioquímico estadunidense, ganhador do prêmio Nobel de química em 1993, revolucionou o mundo científico com o desenvolvimento da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) (MELLO, 2005).

A PCR é um método da área da Biologia Molecular que por meio de enzimas permite a amplificação exponencial uma sequência específica de DNA *in vitro* através de diversos ciclos de desnaturação, anelamento e fusão do primer no seguimento específico para ampliação do material genético que é realizado pela enzima conhecida como: Taq DNA polimerase (SANTOS *et al.*, 2004).

Quando se diz sobre a realização da técnica, necessita-se de um equipamento chamado termociclador que altera a temperatura de acordo com a atividade de cada constituinte do procedimento. A PCR utiliza os deoxinucleotídeos (dNTPS), conhecida como as bases nitrogenadas, sendo elas: Adenina (A), Timina (T), Citosina (C) e Guanina (G), um par de uma sequência específica inicial que se ligará na região de interesse para amplificação, aqui conhecido como primer; a enzima TaqDNA polimerase, sendo essa uma enzima termoestável, e a amostra de interesse ser amplificada. Utiliza-se também o cloreto de magnésio (MgCl₂), que age como um cofator da enzima polimerase e uma solução tampão de cloreto de potássio (KCl), para preservar o pH adequado (HAAS, 2016).

O ensaio da amplificação feita pela Reação em Cadeia da Polimerase é realizado por um método chamado eletroforese em gel. Neste método, o gel utilizado pode ser de acrilamida ou agarose. Na eletroforese, os fragmentos do material genético irão de separar, na presença de um campo elétrico, de acordo com seu tamanho. Assim, é capaz de realizar a análise do material amplificado na PCR. A porção a ser testada é colocada no polo negativo e, da amostra amplificada é colocada no polo negativo e, pelo fato de o DNA ser uma molécula de carga negativa, ele irá migrar para o polo positivo, desse modo, irá separar os fragmentos do material genético de acordo com seu peso molecular, as moléculas cujo são de menor peso irão migrar com maior facilidade. No final do ensaio, as bandas são analisadas e comparadas com o padrão. (VELOSO, 2021)

Como diversos exames no mercado, a PCR possui diversas variações. Uma delas é a RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase por Transcriptase Reversa). Esta variação da PCR é realizada para a detecção cujo material genético pesquisado seja RNA. Para a realização da PCR, há a necessidade de que o RNA seja transcrito para

DNA, essa transcrição é chamada de transcrição reversa, e, para isso, utiliza-se uma enzima conhecida como Transcriptase Reversa, visto que a ordem de transcrição no organismo é DNA para RNA (VELOSO, 2021).

Como o molde da RT-PCR é o RNA, e não o DNA, antes de ocorrer a PCR, é realizada a conversão pela transcriptase reversa em DNA complementar (cDNA). Diferente da PCR convencional, na RT-PCR são utilizados primers inespecíficos e nunca em pares. São oligonucleotídeos compostos por várias timinas consecutivas, sendo de 6 a 35 bases, que são anelados às regiões Poly-A do RNA, ricas em adeninas. A partir disso, se obtém o cDNA que será usado na PCR. (SANTOS *et. al.* 2004).

Como dito anteriormente, o SARS-CoV-2, tem como material genético o RNA, sendo assim, é necessário a utilização da conversão do RNA em DNA para a realização da PCR como um exame de diagnóstico (VELOSO, 2021)

Para o diagnóstico do coronavírus, utiliza-se também a técnica da PCR em Tempo Real (qPCR), sendo essa uma das diversas variações da PCR convencional. Além dos componentes da PCR convencional, na qPCR utiliza-se também a enzima transcriptase reversa com um marcador radioisótopo que tem a capacidade de gerar fluorescência durante os ciclos da PCR. Este método permite que os analistas vejam o resultado quase que imediatamente durante a realização do procedimento por meio da análise da fluorescência em um computador

especializado que rastreia a quantidade de luminosidade a cada ciclo. Enquanto a RT-PCR convencional só permitiria a interpretação do resultado somente ao final da amplificação, por meio da Eletroforese (IAEA, 2020).

A qPCR é uma técnica com uma alta sensibilidade e especificidade, tendo o resultado em cerca de três horas (IAEA, 2020). Para a coleta da amostra é utilizado o swab nasofaríngeo. É recomendado que a amostra seja coletada através do trato respiratório superior, contendo amostras com nasoswabs faríngeos, orofaríngeos, aspirados e nasofaríngeos (VELOSO, 2021)

Em situações cuja há a incapacidade da realização do procedimento no trato superior ou, em casos mais graves, as amostras da respiração inferior trato inferior, como escarro, aspirado traqueal e broncoalveolar lavagem, líquido pleural e biópsia pulmonar podem ser coletados ou, dependendo das necessidades clínicas, eles podem

ser considerados coleta de fezes, amostras de soro e urina (ADENIJI, 2020; BAIN, 2020; CDC, 2020)

Sugere-se que o swab usado para a coleta nasofaringe e orofaringe deve ser feito de fibra sintética com hastes de plástico. Não deve usar cálcio alginato com cotonetes ou cotonetes com hastes de madeira, uma vez que podem conter substâncias que inativam o novo coronavírus e inibem o Teste de RT-PCR. Recomenda-se coletar apenas via nasofaríngea, mesmo que as amostras da rota orofaríngea permaneçam um tipo de amostra aceitável. Se amostra de ambas as áreas forem coletadas, elas devem ser colocadas em um único tubo para potencializar a sensibilidade do teste RT-PCR (CDC, 2020; SBAC, 2020).

A técnica recomendada para coleta é introduzir o cotonete estéril com uma haste de plástico flexível pela narina paralela ao palato até que a resistência seja encontrada, ou a distância seja equivalente à do ouvido à narina do indivíduo, sendo isso um indicativo do contato com a nasofaringe. Deve-se esfregar e rolar o cotonete suavemente por alguns segundos pelas paredes da cavidade para que ocorra a absorção e, em seguida, remova lentamente a amostra a ser coletada. É de suma importância que o mesmo cotonete usado em uma narina, seja usado na outra (DALL'AGNOL, 2021).

As amostras do trato respiratório inferior incluem: expectoração, aspirado traqueal, lavagem bronco alveolar, líquido pleural e biópsia pulmonar e devem ser limitadas a indivíduos com hospitalização grave, condições e casos fatais. As amostras são coletadas em coletores estéreis e devem ser realizadas antes de iniciar o tratamento com antimicrobianos. Para a coleta

de escarro, o indivíduo deve enxaguar a boca com água e expectorar o escarro em um recipiente estéril com tosse profunda (CDC, 2020).

O diagnóstico realizado através do método de qPCR é indicado entre o 3º a 4º dia de sintomas, podendo estender até mesmo ao 10º dia. Seu objetivo principal é identificar a presença do vírus na amostra das secreções respiratórias (DALL'AGNOL, 2021).

Quanto ao armazenamento das amostras, nota-se que as mesmas devem ser mantidas em um refrigerador de 2°C a 8°C, dependendo do tipo de amostra, sendo:

nasofaringe e orofaringe, sangue, fezes ou urina, podem ficar em temperatura ambiente no período de 24 horas ou até 5 dias. Contudo, caso houver um atraso no envio para o laboratório ou naquelas amostras que não puderam ser analisadas de imediato, elas devem ser transportadas a -70°C até o laboratório, assegurando que elas mantenham a temperatura em gelo seco e na embalagem UN3373, conformes às Normas da Associação. Transporte Aéreo Internacional (IATA) (DALL'AGNOL, 2021).

Na escassez dessas condições, as amostras podem ser armazenadas em refrigeradores com temperatura inferior a -20 ° C, por um curto período. Para transporte, o uso de gelo e um termômetro é recomendado para manter e controlar a temperatura. As caixas de armazenamento devem ser lacradas e conter apenas as amostras para o ensaio. Ela também deve ser identificada como: Coronavírus/COVID; Influenza, e as solicitações devem ser postadas do lado de fora da caixa (WHO, 2019; ADENIJI, 2020, BAIN, 2020.)

Testes sorológicos de anticorpos e de antígenos

Segundo o Centro de Controle de Doenças Americano (CDC-USA), os testes sorológicos não devem ser utilizados como escolha única para diagnóstico, exclusão ou informação da infecção por SARS-CoV-2. De acordo com o órgão regulador de administração de medicamentos e alimentos dos Estados Unidos (U.S. Food and Drug Administration - FDA), os testes sorológicos devem ser usados com o objetivo de detectar anticorpos específicos do SARS-CoV-2 e ajudar na identificação de pessoas que foram expostas ao vírus e tenham se recuperado da infecção (DATE, 2020).

Alguns estudos dizem que a maior parte dos pacientes desenvolvem anticorpos somente na segunda semana depois do início dos sintomas (YING, 2020). De acordo com essa

informação, podemos dizer que o diagnóstico de COVID-19 fundamentado na detecção de anticorpos só é possível em uma fase de recuperação, em que muitas viabilidades clínicas de intervenção e retardado da transmissão da doença são perdidas. Assim, baseando-se nos estudos atuais, a Organização Mundial da Saúde (OMS) vetou a recomendação do uso dos testes sorológicos rápidos na prática clínica como método de diagnóstico, mas continua a encorajar este como forma de vigilância epidemiológica (WHO, 2020).

Em contrapartida, o Ministério da Saúde acredita no uso de exames sorológicos como um dos métodos laboratoriais para que haja a confirmação da doença por COVID-19 em pacientes com Síndrome Gripal (SG) ou Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) caso tiverem IgM ou IgG positivo, contando que o material foi coletado depois o sétimo dia de sintomas. Apesar disso, o Ministério comunica que o teste deve ser usado como um instrumento de auxílio para o diagnóstico da infecção e seu resultado deve ser interpretado por um médico com o uso de outras informações e exames laboratoriais confirmatórios (BRASIL, 2020)

O exame considerado padrão ouro para o diagnóstico da COVID-19 é o RT-PCR. No entanto, na indisponibilidade do RT-PCR e, em algumas situações, a COVID-19 pode ser determinada indiretamente pela medição da resposta imune do hospedeiro à infecção pelo vírus pelos testes sorológicos. Diferente da qPCR, para a produção de testes imunológicos os fabricantes precisam captar os antígenos virais ou recombinantes, avaliar em testes preliminares se os antígenos são de fato imunogênicos e específicos (DIAS, 2020).

Os antígenos utilizados que são considerados gerar uma resposta imunológica e são utilizados pelos fabricantes são os antígenos da nucleoproteína (NC) e os antígenos Spike (S). Anticorpos são dirigidos de forma predominante para a proteína S, enquanto a proteína NC tem papel importante na replicação do vírus e influencia a produção de anticorpos mais previamente. Os exames que identificam os anticorpos contra NC são mais sensíveis do que aqueles com detecção de anticorpos contra receptor da proteína S (RBD-S) (CHENG, 2020).

Os exames sorológicos para diagnóstico da COVID-19 se baseiam no complexo antígeno-anticorpo, com variantes que podem buscar os anticorpos ou os antígenos específicos do vírus (NALLA *et al.*, 2020; PORTE, 2020)

Os exames convencionais que estão disponíveis no Brasil, são aqueles que pesquisam por IgG e IgM através do método de quimiluminescência (CLIA) e IgG e IgA através do método de ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*). Atualmente, estão disponíveis no mercado meios que detectam anticorpos totais ou apenas IgG através do método de

eletroquimioluminescência (EIA). A precisão dos testes citados pode variar não só pela metodologia e tipo de antígeno usado na reação, mas também pelo tempo de coleta do início dos sintomas, sendo o tempo ideal 10 dias para IgM e IgA e após 15 dias para IgG (HOFFMAN, 2020).

As versões que detectam anticorpos contra os antígenos virais da COVID-19 podem ser das classes específicas, como: IgG, IgM, IgA, ou anticorpos totais, sendo IgG + IgM. O material de amostra utilizado pode ser: sangue total, soro ou plasma do paciente (CDC, 2020). Estes testes sorológicos podem ser divididos em dois tipos:

- Testes rápidos que utilizam a metodologia imunocromatográfica;
- Testes sorológicos realizados por técnicas convencionais de ensaios imunoenzimáticos, como: ELISA, CLIA e/ou EIA.

Testes sorológicos rápidos e os convencionais possuem algumas diferenças entre eles além de suas metodologias. Os testes sorológicos rápidos para pesquisa de Anticorpos IgG e IgM e totais têm a vantagem de serem liberados de forma rápida, cerca de no máximo 20 minutos aproximadamente e realizados na própria unidade de coleta, sendo farmácias, nos laboratórios clínicos e ambulatoriais (DIAS, 2020).

Enquanto os testes sorológicos convencionais, são realizados apenas em laboratórios clínicos especializados, eles identificam anticorpos IgG, IgM, IgA e totais de forma qualitativa ou semi-quantitativa, sendo mais monitorados e mais específicos, com um prazo de liberação maior que o teste rápido, sendo em um período de 24h a partir da chegada da amostra do laboratório (FERREIRA, 2020).

Os testes imunológicos rápidos apresentam desempenhos melhores quando são realizados em amostras de soro ou plasma, ao serem comparados com amostras de sangue total ou capilar, principalmente quando se diz à sensibilidade sobre o diagnóstico (SANTOS, 2020). Sendo assim, em alguns laboratórios têm sido recomendado que amostras de sangue sejam colhidas, centrifugadas, para a separação do soro, e enviadas para o processamento na área técnica laboratorial. Entretanto, o desempenho de alguns testes rápidos mesmo com a utilização das amostras de soro, tem-se visto variações quanto a sensibilidade e especificidade ao ser comparado com as informações geradas pela bula pelo fabricante (MONTESINOS, 2020).

Devido a necessidade de diagnóstico para a COVID-19, diversos fabricantes desenvolveram várias metodologias com diferentes tipos de antígenos, cada um com seu

desempenho imunogênico. Vários outros fatores conhecidos podem vir a interferir no desempenho dos testes sorológicos rápidos, sendo eles: o volume da

amostra utilizada, temperatura e umidade do local onde está sendo realizado o teste (ERNST, 2017).

Contudo, é necessário submeter os novos testes a estudos que proporcionem parâmetros diagnósticos, tais como: sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo e valor preditivo positivo. Sendo assim, diferentes fabricantes podem vir a oferecer acurácias diversas para o mesmo tipo de diagnóstico (CDC, 2020; WOLOSHIN, 2020).

Uma infecção inicial por SARS-CoV é uma provável causa de um resultado falso positivo em exame sorológico para SARS-CoV-2, em razão da grande semelhança estrutural da glicoproteína S (LV, 2020).

Há estudos devido às reações cruzadas com Zika e cerca de dois casos constando falso positivo em sorologias para COVID-19 que tiveram diagnóstico de Dengue (LI, 2020; YAN, 2020; ZAIDI, 2020).

Segundo um estudo feito recentemente, em cerca de 40 pacientes imunizados recentemente contra a influenza, é provável que pacientes imunizados ativamente para influenza tenham resultado falso positivo na busca de anticorpos de fase aguda contra o SARS-CoV-2 (DIAS, 2020).

Segundo um estudo de Wang e cols. a presença de fator reumatoide é uma condição importante que pode causar interferência de resultados falso positivos na detecção de IgM para SARS-CoV-2 (WANG, 2020). Estudos também já mostraram resultados falsos positivos para SARS-CoV-1 em pacientes portadores de doença autoimune (WANG, 2004).

Frente à uma exposição viral, o hospedeiro inicia a resposta imune e a produção dos anticorpos apresentando manifestações clínicas ou não. Esse desenvolvimento de anticorpos depende de vários fatores, entre eles: concentração viral, genótipo viral, imunidade e genética do hospedeiro (DIAS, 2020).

A janela imunológica é um fator importante para a precisão do resultado diagnóstico. Ela é o intervalo entre a exposição viral e a capacidade dos testes em identificar os anticorpos. Quando se trata da COVID-19, o período recomendado é em média de 7 a 10 dias, podendo variar de períodos mais curtos e mais tardios, dependendo dos fatores citados anteriormente (DIAS, 2020).

De acordo com alguns estudos, a razão de pacientes com IgG específica paravírus SARS-CoV-2 positivo atingiu 100% aproximadamente de 17 a 19 dias após o início da manifestação dos sintomas, ao tempo que a proporção de pacientes com IgM específica positivo obteve um pico de 94,1% aproximadamente de 20 a 22 dias após o início dos sintomas. No decorrer das 3 primeiras semanas após a manifestação dos sintomas, ocorreu pico nos títulos de anticorpos IgM e IgG específicos para o vírus (LONG, 2020).

Devido a pandemia, no Brasil, o registro de testes diagnósticos para COVID-19 foi acelerado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)⁴⁷, visto isso, foi-se necessário que o Ministério da saúde Brasileiro emitisse uma nota com os detalhes de acurácia dos testes registrados (BRASIL, 2020).

Com a preocupação devido a qualidade dos diferentes materiais autorizados, a validação dos exames com amostras conhecidas é fundamental para a avaliação do produto final para o uso no laboratório. Geralmente, em cada laboratório deve-se estabelecer uma técnica de validação dos testes que serão oferecidos (DIAS, 2020).

Usualmente, o principal meio de validação de testes sorológicos é a identificação de amostras que sejam conhecidas pelo laboratório sendo verdadeiramente positivas e negativas. Sugere-se que para identificação das amostras negativas, utilize-se amostras coletadas até dezembro de 2019, sendo este quando coronavírus ainda não havia se instalado no Brasil. Prefere-se amostras sabidamente negativas para HIV, hepatite B, hepatite C e outros vírus (WOLOSHIN, 2020).

Quanto às amostras positivas, busca-se que sejam de pacientes com diagnóstico de COVID-19 confirmado por RT-PCR, coletadas em diferentes tempos desde o início dos sintomas, sendo considerado as respostas de produção de IgM e IgG, podendo ser consideradas com mais de 7, 10, 15 ou mais de 20 dias (WOLOSHIN, 2020).

Quando se diz sobre interpretação diagnóstica dos testes sorológicos para o SARS-CoV-2, precisa-se levar em consideração muito além da situação clínica, também precisa considerar as questões sobre a janela imunológica, assim como o momento em que o teste foi realizado, além de informações sobre o método do teste (SETHURAMAN, 2020).

Assim sendo, os testes imunológicos não devem ser realizados isolados para definir doença ou infectividade por COVID-19. Para diagnosticar se o indivíduo está infectado, faz-se necessário a realização da RT-PCR. De forma sintetizada, um teste de RT-PCR para SARS-

CoV-2 positivo está relacionado a uma infecção recente ativa, enquanto os testes sorológicos positivos relacionam-se a infecções ou contatos prévios (CDC, 2020).

De forma geral, para diagnóstico de infecção ativa em pacientes sintomáticos ou suspeitos de COVID-19, o teste padrão-ouro é o RT-PCR, sendo o período ideal para coleta de RT-PCR em swab nasofaríngeo/secreção traqueal é entre o 3º e o 7º dia de sintomas, porém o paciente deve estar apresentando sintomas. Já nos testes sorológicos, o período de realização recomendado é após o 10º ao 14º dia, podendo ser feito em pacientes sintomáticos ou assintomáticos. Quando se diz teste sorológico para anticorpos totais inclui-se IgM e IgG, sem diferenciação entre um e outro (DIAS, 2020).

Em certas situações podemos indicar a precisão da repetição de um teste sorológico. De acordo com especialistas da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica estas situações são quando: IgM reagente e IgG não reagente: avaliação de uma possível soroconversão de IgG ou falsos positivos de IgM, sendo capaz de amostras com intervalo de pelo menos duas semanas entre as coletas; IgM não reagente e IgG reagente: perto do limite de detecção ou para teste de reagente qualitativo de baixa intensidade para avaliar títulos aumentados de anticorpos IgG. É melhor colher amostras com pelo menos duas semanas de intervalo. O objetivo é observar um aumento de 4 vezes no título de IgG para considerar a resposta imune específica contra o vírus e para excluir IgG falso positivo (WHO, 2020).

Existem muitas incertezas quanto à imunidade conferida pelos títulos de IgG. Levando em consideração o possível período de incubação do vírus ou novas infecções, esses anticorpos podem não ser duráveis ou ainda incapazes de prevenir a reativação (CDC, 2020). De acordo com a Organização Mundial da Saúde, atualmente não há evidências de que as pessoas que se recuperaram do COVID-19 tenham anticorpos protetores contra a segunda infecção (DIAS, 2020).

Metodologia

Trata-se de um estudo bibliográfico, descritivo do tipo revisão integrativa da literatura, partindo do levantamento de dados e análises disponíveis de pesquisas anteriores. Na operacionalização dessa revisão, foram utilizadas sete etapas: determinação do tema central, escolha do objetivo, seleção da amostragem ou busca na literatura de artigos primários, extração

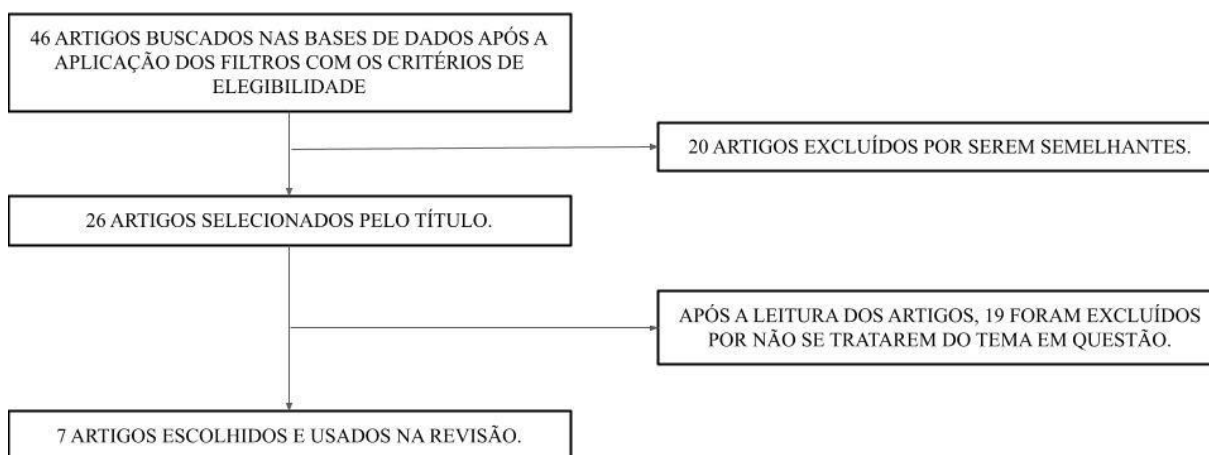
de dados, avaliação dos estudos primários incluídos, análise e síntese dos resultados e apresentação de revisão.

Para a pesquisa, foram utilizados os bancos de dados Scientific Electronic Library Online (SciELO), Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), PubMed e Literatura Latino- americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) incluindo: artigos científicos, monografias, dissertações, testes, atualizações de Revistas de saúde, publicados no período de 2020 a 2021, sendo selecionados 46 artigos pesquisados, usando combinação de descritores: **COVID-19, SARS-CoV-2, Coronavírus, Técnica Reação em Cadeia da Polimerase, Testes sorológicos, Diagnostico laboratorial**, conforme os Descritores Da Ciências da Saúde (DECS).

Porém foram excluídos 20 artigos repetidos e 19 artigos que não enfatizavam os tópicos de interesse para a elaboração deste trabalho, restando assim os 7 artigos que foram utilizados nesta revisão.

Resultados

Fluxograma do processo de busca e seleção dos artigos, Passos, Brasil, 2022.



Fonte: Dados da Pesquisa.

Após seleção dos 7 artigos que compuseram a amostra final, os mesmos foram organizados e caracterizados quanto aos autores, ano de publicação, título objetivo, local do estudo e principais resultados, como pode ser observado no Quadro 1. Os artigos foram organizados por ordem alfabética.

Quadro 1 - Artigos organizados por ordem alfabética.

Autores/Ano	Título	Objetivo	Local	Principais resultados
XAVIER et al.,2020	COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus	Apresentar as manifestações clínicas e alterações laboratoriais presentes na infecção pelo novo coronavírus	Rio de Janeiro	Manifestações clínicasassemelham as infecções por Norovirus e Influenza, com envolvimento pulmonar sendo semelhante ao das infecções complicadas por influenza H1N1, SARS e SARS-CoV. Tendo as alterações laboratoriais sendo inespecíficas, tendo um papel fundamental na definição do diagnostico mas sem valor adicional na monitoração da infecção.
PINHO et al., 2021	Infecção persistente de longo prazo pelo coronavírus SARS-CoV-2	Apresentar a infecção presente no paciente ao longo prazo mesmo RT-PCR negativa.	São Paulo	Mesmo com o RT-PCRnegativo não exclui a infecção presente e transmissível, deve- se também relacionar a clinica do paciente e suas alteraçõesradiológicas.
NOGUEIRA E SILVA, 2020.	Diagnostico laoratorial da COVID-19	Apresentar os principais testes de	Rio de Janeiro	A resposta imune a infecção pela COVID-19 permite a detecção dos anticorpos no
	no Brasil.	diagnostico para a COVID-19 disponíveisno Brasil.		sangue total, soro e plasma através dos testes sorologicos, mas deve se ater a janela imunologica para evitar os falsos-negativos. Quanto a RT-PCR é considerada o padrão ouro, mas deve frisar que não deve ser concluído o diagnostico com apenas um resultado.

MENEZES et al., 2020	Diagnostico laboratorial do SARS-CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real(RT-PCR)	Detalhar sobre o examemolecular RT-PCR, frisando sobrecoleta e seu resultado.	Santa Catarina	O estudo apresentou que um resultado único de SARS-CoV-2 não detectado em um paciente sintomático não é o diagnóstico. O teste não mostrou reatividade com outros fatores singulares. No entanto, é caro e demorado e demorado o teste a falsos devido ao momento exato da coleta da amostra, coleta e coleta coletada viral no teste, o que pode ser o material insuficiente ponto de amostra da amostra.
MARTINELLO, 2021.	Acuracia diagnostica dos metodos sorologicos de detecção da COVID-19	Mostrar a precisão entre os testes sorologicos disponiveis para a detecção da infecção pela COVID-19	Santa Catarina	Os resultados sugerem que o imunoensaio tem baixo valor diagnóstico, mas tem potencial para uso em estudos soroepidemiológicos. Mais pesquisas sobre validação analítica e precisão diagnóstica de testes são importantes, especialmente para exames médicos.
CABARAL et al., 2021.	Certeza incertas: Desafios proximos no Diagnostico Laboratorial da COVID-19	Apresentar os desafios impostos no diagnostico laboratorial da COVID-19	Portugal	O estudo mostrou-se que por mais específico que o RT-PCR seja, seu custo é alto, quanto aos testes sorológico sua especificidade é baixa, porém seu custo benefício é alto.
MAGNO et al., 2020	Desafios e propostas para ampliação das testagens e diagnostico para COVID-19 no Brasil	Discutir os desafios da testagem e do diagnóstico de COVID-19 no Brasil.	Bahia	O estudo mostrou que é necessário eliminar o impasse burocrático da acreditação diagnóstica em laboratórios universitários e instituições de pesquisa; ampliar o financiamento para treinamento e contratação de pessoal; investir em pesquisas em diagnósticos sorológicos, epidemiologia, desenvolvimento e tratamento de vacinas; formulação de decisão política de tomar uma decisão.

Fonte: dados da Pesquisa.

Em parâmetro mundial, o diagnóstico laboratorial desempenhou uma importante função tanto para o prognóstico e acompanhamento, assim como para estudos da epidemiologia molecular do SARS-CoV-2 (MENEZES, 2020). Estudos recentes mostram que deve considerar que, por mais precisos e rápidos que sejam os métodos laboratoriais, o diagnóstico da COVID-19 necessitam de uma coleta adequada da amostra do paciente no momento certo da infecção, em questão de aumentar a chance de detecção do marcador biológico investigado (MAGNO, 2020).

Segundo Magno, o teste confirmatório é a PCR em tempo real (RT-qPCR), visto que há detecção do material genético do vírus, como o RNA viral. Ele pode estar presentes em amostras de fezes, urina e sangue, mesmo que com menor sensibilidade e especificidade do que nas amostras respiratórias. Uma exceção do RNA do SARS-CoV-2, é que ele é constantemente detectado nas fezes até duas semanas após o início dos sintomas. Assim sendo, o RT-qPCR do *swab* combinado oral/nasal é considerado como teste confirmatório para SARS-CoV-2, até o presente momento (MAGNO, 2020).

Para a contenção da pandemia, os ensaios sorológicos foram criados como metodologias complementares, com potencial de detetar contato prévio com o vírus, mas também de serem integradas num rastreio rápido e em larga escala de indivíduos suspeitos, ou com infecções subclínicas. Já são distribuídos no mercado diferentes ensaios que examinar a soroconversão na COVID-19, sendo as principais metodologias disponíveis: a imunoabsorção enzimática (ELISA), os imunoenaios por quimioluminescência (CLIA) e os ensaios de fluorescência enzimáticos (ELFA). Têm a capacidade de avaliar um grande volume de amostras simultaneamente, disponibilizam resultados em 20 a 30 minutos, variando a imunoglobulina (Ig) doseada (IgM, IgG, IgA, combinação IgM/IgG). Possuem também a vantagem de ultrapassar algumas limitações pré-analíticas das técnicas moleculares, onde a qualidade da amostra depende da quantidade de genoma viral recolhido (CABRAL, 2021).

Um estudo documentou um aumento da sensibilidade diagnóstica quando à PCR se acrescentou um doseamento de IgM por ELISA. A dosagem desta Ig, cujos níveis aumentaram globalmente até ao 14º dia após o início dos sintomas, foi assim proposto como adjuvante ao diagnóstico molecular, aumentando a taxa de detecção da doença. Todavia, dadas as contradições encontradas na literatura relativamente aos perfis de seroconversão na COVID-19, ensaios combinados IgM/IgG poderão cumprir melhor essa finalidade (CABRAL, 2021).

Discussão

Devido a grande emergência da pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 no mundo, diversas metodologias diagnósticas foram criadas para auxiliar na detecção do agente patológico, ajudando a contribuir a fim de evitar a sua disseminação, e ajudar na detecção de quem já teve a doença e, em alguns casos, favorecer o tratamento prévio (NOGUEIRA, 2020).

Em âmbito nacional, a sorologia tem sido o mais utilizado para diagnóstico da COVID-19, pelo custo baixo e pela rapidez da obtenção do resultado. Esse método é executado a partir de amostras de sangue, soro ou plasma, que devem ser obtidas após do oitavo dia de sintomas, a fim de que seja respeitado o tempo de produção de anticorpos pelo sistema imunológico em quantidade suficiente para detecção do teste (NOGUEIRA, 2020).

Recentes revisões apontam que a resposta imune ao novo CoV ainda é bastante limitada. Estudos indicam que os anticorpos de imunoglobulina da classe A (IgA) e da classe M (IgM) têm uma identificação sorológica média por volta do sétimo dia após o início dos sintomas, subsequente de um aumento dos níveis de imunoglobulina da classe G (IgG). O valor negativo desses testes é baixo quando realizado na fase aguda da infecção, o que significa que os resultados negativos não descartam a doença; sendo assim, esses indivíduos podem estar contaminados, sendo fonte de contágio para outros indivíduos. Em relação aos resultados positivos dos testes, eles apresentam valores fidedignos (XAVIER, 2020).

Normalmente, os testes imunológicos não devem desempenhar um papel na triagem ou no diagnóstico de pacientes com apresentação de sintomas recentes, e seu uso é destinado a indivíduos hospitalizados com uma condição não tão recente e ao diagnóstico de profissionais de saúde, apresentando sintomas a partir do sétimo dia de sintoma, a fim de facilitar a dinâmica de afastamentos e retornos à força de trabalho em saúde. Entretanto, deve-se lembrar que os resultados negativos não excluem a doença (XAVIER, 2020).

A fim de monitoração, a OMS recomenda os exames sorológico para fiscalizar a incidência da COVID-19, especialmente, em grupos fechados, como escolas, presídios e casas de permanência de longa duração (MARTINELLO, 2021).

Quanto ao RT-PCR, este permanece como o padrão ouro, sendo o primeiro teste a ser desenvolvido para detecção da COVID-19. O diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 por RT-

PCR envolve diversas etapas, exigindo profissionais capacitados para tal, tanto quanto a coletar a sua análise (MENEZES, 2020).

Segundo Nogueira, a RT-PCR trata-se de uma técnica extremamente sensível e específica, e caso seja realizada corretamente, os resultados errôneos são quase nulos. Os resultados falso-negativos podem ser obtidos se como amostras preliminares coletadas precocemente ou tardiamente. O mesmo pode acontecer com esfregaços insuficientes provenientes da nasofaringe ou amostras contaminadas durante o processo (NOGUEIRA, 2020).

Recentes fontes de literatura, mostram que o ideal é que a coleta seja feita após o surgimento dos sintomas, sendo eles entre o terceiro e o quinto dias, ou, no mais tardar, até dez dias após o ocorrido, sendo amostras obtidas por meio do aspirado nasofaríngeo (ANF), swab nasal e oral, bem como pela secreção respiratória do trato inferior, como escarro, lavado traqueal ou lavado broncoalveolar (NOGUEIRA, 2020).

De acordo com Nogueira, mesmo sendo considerado um método eficaz de detecção, deve ter em mente que o resultado negativo em RT-PCR não descarta a possibilidade de infecção pelo vírus, sendo assim, recomenda-se que o resultado seja adequado juntamente com observações clínicas, o histórico do paciente e informações epidemiológicas da região. Em caso do paciente apresentar alta probabilidade de infecção e, mesmo assim, o teste seja negativo, é adequado realizá-lo novamente com amostras distintas (NOGUEIRA, 2020).

Conforme exposto no parágrafo anterior, Pinho et al., relatou resultados positivos em testes de RT-PCR feitos 5 a 13 dias após a alta em quatro pacientes com COVID-19 que completaram parâmetros de alta hospitalar ou cessação da quarentena, sendo estes: ausência de sintomas clínicos e alterações radiológicas e dois resultados negativos no teste da RT-PCR. Em um outro estudo recente, mostrou que 10 de 60 pacientes com diagnóstico prévio de COVID-19 testaram positivo para SARS-CoV-2 na RT-PCR entre 4 e 24 dias após a alta hospitalar, corroborando os achados do primeiro estudo (PINHO, 2021).

Conclusão

Na atual realidade tem nos mostrado a grande relevância dos exames laboratoriais. Além disso, ferramentas de diagnóstico têm sido cruciais para o acompanhamento do paciente com sintomas da COVID, servindo de apoio aos médicos para a tomada de decisões no que se

refere à prevenção, diagnóstico, tratamento e prognóstico de um indivíduo acometido pelo SARS-CoV-2.

Isso mostra que o investimento em ferramentas de diagnóstico se faz necessário na tentativa de buscar melhorias e métodos mais eficazes, mais rápidos, com maior sensibilidade e especificidade minimizando os erros pré-analíticos, analíticos e pós analíticos. Conseqüentemente, trazendo resultados com maior acurácia e redução de resultados falsos positivos e falsos negativos que irão beneficiar mais ainda a população em geral.

Em virtude de sucessivas revisões, o Ministério da Saúde destaca que, por causa da dinâmica da epidemia e a produção de conhecimento, essas informações podem sofrer alterações à medida que o conhecimento da doença avance. Assim, é importante que evidências mais recentes sejam utilizadas na atualização das versões deste protocolo. Ressaltando, ainda que futuras atualizações serão realizadas sempre que necessário, devendo o profissional de saúde estar atento a isso.

Referências

ADENIJI, A. A. Self-collected upper respiratory tract swabs for COVID-19 test: a feasible way to increase overall testing rate and conserve resources in South Africa. **African Journal of Primary Health Care & Family Medicine**, v. 12, n. 1, p. 2445, 2021.

ADHIKARI, S. P.; MENG, S.; WU, Y. et. al. Epidemiology, causes, clinical manifestation and diagnosis, prevention and control of coronavirus disease (COVID-19) during the early outbreak period: a scoping review. **Infectious diseases of poverty**, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2020.

AI, T.; YANG, Z.; HOU, H. et. al. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing in Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. **Radiology**, v. 296, n. 2, p. 32-40, 2020.

AMANAT, F.; STALBAUER, D.; STROHMEIER, S. et. al. serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. **Nature Medicine**. v. 26, n. 7, p. 1033-1036, 2020.

AMMAD UD DIN, M.; BOPANA, L. K. T. An update on the 2019-nCoV outbreak. **American Journal of Infection Control**, v. 48, n. 6, p. 713, 2020.

BAIN, W.; LEE, J. S.; WATSON, A. M.; STITT-FISCHER, M. S. Practical Guidelines for Collection, Manipulation and Inactivation of SARS-CoV-2 and Covid-19 Clinical Specimens. **Current Protocols in Cytometry**, v. 93, n. 1, p. 77, 2020.

BEZERRA, V. L.; ANJOS, T. B.; SOUZA, L. E. S. et. al. SARS-CoV-2 como agente causador da COVID-19: Epidemiologia, características genéticas, manifestações clínicas, diagnóstico e possíveis tratamentos. **Brazilian Journal of Health Review**. v. 3, n. 4, p. 8452-8467, jul/ago. 2020.

BOSCH, B. J.; ZEE, R. V. D.; HAAN, C. A. M.; ROTTIER, P. J. M. The Coronavirus Spike Protein Is a Class I Virus Fusion Protein: Structural and Functional Characterization of the Fusion Core Complex. **Journal of Virology**, v. 77, n. 16, p. 8801-8811, 2003.

BRASIL, M da S. **Vigilância Integral Síndromes Respiratórias Agudas Doença pelo Coronavírus 2019, Influenza e outros vírus Respiratórios, 2020**; v.3; p.1-37. Disponível em: <<https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/06/GuiaDeVigiEp-final.pdf>>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Protocolo de manejo clínico do coronavírus (COVID-19) na atenção primária à saúde. **Secretaria de Atenção Primária à Saúde (SAPS)**. 2020; Disponível em <<https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/08/20200408protocoloManejover07.pdf>>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção Especializada à Saúde. Departamento de Atenção Hospitalar, Domiciliar e de Urgência. **Protocolo de Tratamento do Novo Coronavírus (2019-nCoV)**. Brasília, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. SECRETARIA DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INOVAÇÃO. **Acurácia dos testes diagnósticos registrados na ANVISA para a COVID-19.**, p. 1-35, 2020.

CABRAL, P.; GOMES, B.; FELGEURIAS, M. Certezas Incertas: Desafios próximos no Diagnóstico Laboratorial da COVID-19. **Acta Medica Portuguesa**, v. 34, n. 1, p. 3-5, 2021.

CAI, J.; JIN, X.; DAOJIONG, L. et. al. A Case Series of children with 2019 novel coronavirus infection: clinical and epidemiological features. **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 6, p. 1547-1551, 2020.

CDC. **Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)**. 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/if-you-are-sick/steps-when-sick.html>>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

CDC. **Guidance on Interpreting Covid-19 Test Results**. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases. 2020. p. 19. Disponível em: <<https://www.whitehouse.gov/wp-content/uploads/2020/05/Testing-Guidance.pdf>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

CDC. **Interim Guidelines for COVID-19 Antibody Testing**. 2020. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

CDC-Centers for Disease Control and Prevention. **Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens for Covid-19**. 2020 Disponível em: <<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html#specimen>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

CHAN, J.; YUAN, S.; KOK, K. et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 514-523, 2020.

CHENG, M. P.; PAPENBURG, J.; DESJARDINS, M. et. al. Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus-2: A Narrative Review. **Annals of Internal Medicine**, v. 172, n. 11, p. 726-734, 2020.

CUI, Y.; TIAN, M.; HUANG, D. et. al. A 55-Day-Old Female Infant Infected with 2019 Novel Coronavirus Disease: Presenting with Pneumonia, Liver Injury, and Heart Damage. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 222, n. 11, p. 1775-1781, 2020.

DALL'AGNOL, J.; SHAWARTZ, E.; LISE, F. Recommendations for specimen collection for detection and diagnosis of COVID-19. **ABCS HEALTH SCIENCES**, v.46, 2021.

DATE, R. **Frequently Asked Questions about Coronavirus (COVID-19) for Laboratories**. National Center for Immunization and Respiratory Diseases (NCIRD), Division of Viral Diseases. 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/faqs.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2F1ab%2F1ab-testing-faqs.html> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

DIAS, V. M. C. H.; CARNEIRO, M. VIDAL, C. F. L.; et al. Orientações sobre Diagnóstico, Tratamento e Isolamento de Pacientes com COVID-19. **Journal of Infection Control**, v. 9, n.2, abr./jun. 2020.

DIAS, V. M. C. H.; CARNEIRO, M.; MICHELIN, L.; et. el. Testes sorológicos para COVID-19: Interpretação e aplicações práticas. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 2, Abr/Jun, 2020.

DIAS. V.; CARNEIRO, M.; VIDAL, C.; CORRADI, M.; BRANDÃO, D.; CUNHA, C. *et al* Orientações sobre Diagnóstico, Tratamento e Isolamento de Pacientes com COVID-19. **Journal of Infection Control**, v. 9, n. 2, Abr./Jun. 2020.

ERNST, D. J.; MARTEL, A. M.; ARBIQUE, J. C. et. al. Collection of Diagnostic Venous Blood Specimens. **Clinical and Laboratory Standards**, v. 37, n. 7, p. 1-60, 2017.

Estado do Rio Grande do Sul. Secretaria da Saúde do Rio Grande do Sul. Centro Estadual de Vigilância Sanitária. **Orientações para coleta e transporte de secreção respiratória- 2020**.

Disponível em: <<https://saude.rs.gov.br/upload/arquivos/202002/06115208-2020-orientacoes-coleta-amostra-coronavirus-anexo-plano.pdf>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

FERGUSON, N. M.; LAYDON, D.; GILANI-NEDJATI, G et. al. **Impact of non-pharmaceutical interventions (NPIs) to reduce COVID19 mortality and healthcare demand**.2020.Disponível em:

<<https://spiral.imperial.ac.uk:8443/bitstream/10044/1/77482/14/2020-03-16-COVID19-report-9.pdf>>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

FERREIRA, C. E. S. Métodos Laboratoriais para Diagnóstico da Infecção pelo SARS-CoV-2. Vol. 105. **Sociedade Brasileira de Patologia Clínica**; 2020. Disponível em: <<http://www.bibliotecasbpc.org.br/index.php?P=4&C=0.314.345>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

GUAN, W.; NI, Z.; HU, Y.; et. al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 1708-1720, 2020.

HAAS, D. J.; TORRES, A, C, D. Aplicações das técnicas de PCR no diagnóstico de doenças infecciosas dos animais. **Revista Científica De Medicina Veterinária**, v. 26, 2016.

HOFFMAN, T.; NISSEN, K.; KRAMBRICH, J.; et. al. Evaluation of a COVID-19 IgM and IgG rapid test; an efficient tool for assessment of past exposure to SARS-CoV-2. **Infection Ecology & Epidemiology**, v. 10, n. 1, 2020.

HUANG, C.; WANG, Y.; LI, X.; et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 497-506, 2020.

IAEA-INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY. **How is the COVID-19 virus detected using real time RT-PCR?** 2020. Disponível em: <<https://www.iaea.org/bulletin/infectious-diseases/how-is-the-covid-19-virus-detected-using-real-time-rt-pcr>>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

JIN, Y.; CAI, L.; CHENG, Z.; et. al. A rapid advice guideline for the diagnosis and treatment of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) infected pneumonia (standard version). **Military Medical Research**, v. 7, n. 1, p. 4, 2020.

LAN, J.; GE, J.; YU, J.; et. al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. **Nature**, v. 581, n. 7807, p. 215-220, 2020.

LANG, P. **Fiocruz detecta mutação associada a variantes de preocupação no país, 2021.** Disponível em: <<https://portal.fiocruz.br/noticia/fiocruz-detecta-mutacao-associada-variantes-de-preocupacao-no-pais>> Acesso em: 06 de agosto de 2021.

LI, R.; PEI, S.; CHEN, B.; YIMENG, S, ZHANG, T. YANG, W.; SHAMAN, J. Substantial undocumented infection facilitates the rapid dissemination of novel coronavirus (SARS-CoV-2). **Science**, v. 368, n. 6490, p. 489-493, 2020.

LI, Z.; YI, Y.; LUO, X.; et. al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. **Journal of Medical Virology**, v. 92, n. 9, p. 1518-1524, 2020.

LIANG, W.; GUAN, W.; CHEN, R.; WANG, W.; LI, J.; XU, K.; LI, C.; AI, Q.; LU, W.;

LIANG, H.; LI, S.; HE, J. Cancer patients in SARS-CoV-2 infection: a nationwide analysis in China. **The Lancet Oncology**, v. 21, n. 3, p. 335-337, 2020.

LIU, T.; HU, J.; XIAO, J.; et. al. Time-varying transmission dynamics of Novel Coronavirus Pneumonia in China. **BioRxiv**, 2020.

LONG, Q. X.; LIU, B. Z.; DENG, H. J.; et. al. Antibody responses to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19. **Nature Medicine**, v. 26, p. 845-848, 2020;

LV, H.; WU, N. C.; TSANG, W. T. Y.; et. al. Cross-reactive antibody response between SARS-CoV-2 and SARS-CoV infections. **bioRxiv**, 2020.

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

propostas para ampliação da testagem e diagnóstico para COVID-19 no Brasil. **Ciência e Saúde Coletiva**, v. 25, n. 9, p. 3355-3364, 2020.

MARTINELLO, F. Acuracia diagnostic dos metodos sorologicos de detecção da COVID-19. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 2, p. 155-162, 2021.

MCINTOSH, K. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19)**. 2020. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/coronavirus-disease-2019-covid-19>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

MEHTA, P.; MCAULEY, D. F.; BROWN, M.; SANCHEZ, E.; TATTERSALL, R. S.; MANSON, J. J. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. **Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1033, 2020.

MELLO, F. C; COSTA, J. F. The utility of molecular biology in the diagnosis of tuberculosis. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**. v. 31, n. 03, 2005.

MENEZES, M. E.; LIMA, L. M.; MARTINELLO, F. Diagnóstico laboratorial do SARS- CoV-2 por transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR). **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 52, n. 2, p. 122-130, 2020.

MONTESINOS, I.; GRUSON, D.; KABAMBA, B.; et. al. Evaluation of two automated and three rapid lateral flow immunoassays for the detection of anti-SARS-CoV-2 antibodies. **Journal Clinical Virology**, v. 128, 2020.

MURTHY, S.; GOMERSALL, D. C.; FOWLER, A. R. Care for critically ill patients with COVID-19. **JAMA**, v. 323, n. 15, p. 1499-1500, 2020.

NALLA, A. K.; CASTO A. M.; HUANG, M. L. W.; et al. Comparative Performance of SARS-CoV-2 Detection Assays using Seven Different Primer/Probe Sets and One Assay Kit. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 6, jun. 2020

NETO, A. G. S.; SANTOS, A. F.; SANTOS, J. R.; ALVES, L. L.; RAMOS, A. C. S.; SANTANA, A. A. M.; SANTOS, I. D. D.; GASPAR, L. M. A. C. COVID-19: Metodologia

de diagnóstico. **Research, Society and Development**. v. 10, n. 5, 2020.

NOGUEIRA, J. M. R.; SILVA, L. O. P. Diagnostico laboratorial da COVID-19 no Brasil. **Revista Brasileira de Analises Clinicas**, v. 52, n. 2, p. 117-112, 2020.

OMS. **Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected: interim guidance**, 13 March 2020. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

OMS. **Coronavirus disease (COVID-19) advice for the public: When and how to use masks, 2020**. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public/when-and-how-to-use-masks>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

OMS. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19): Situation Report – 73.2020**. Disponível em: https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200402-sitrep-73-covid-19.pdf?sfvrsn=5ae25bc7_2.> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

OMS. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases. 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>. Acesso em: 10 de outubro de 2021.

PHELAN, A. L.; KATZ, R.; GOSTIN, L. O.; The novel coronavirus originating in Wuhan, China: challenges for global health governance. **JAMA**, v. 323, n. 8, p. 709-710, 2020.

PINHO, J. R. R.; OLIVEIRO, K. G.; SITNIK, R.; MALUF, M. M.; RODRIGUES, P. H. S.; SANTANA, R. A. F.; WELTER, E. R.; IRONY, O. Infecção persistente de longo prazo pelo coronavirus SARS-CoV-2. **Einstein**, v. 19, p. 1-5, 2021.

PORTE, L.; LEGARRAGA, P.; VOLLRATH, V.; et. al. Evaluation of novel antigen-based rapid detection test for the diagnosis of SARS-CoV-2 in respiratory samples. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 99, p. 328-333, 2020;

REIS, A. A. S.; SANTOS, R. S. O padrão ouro no diagnóstico molecular na COVID-19: O que sabemos sobre a soberania deste método? **Brazilian Journal of Health Review**. Curitiba, v. 3, n. 3, p. 5986-5992, maio/junho, 2020.

ROSA, S. G. V.; SANTOS, W. C. Clinical trials on drug repositioning for COVID-19 treatment. **Revista Panamericana de Saúde Pública**, v. 44, p. 40, 2020.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. **Journal of autoimmunity**, v. 109, p. 102433, 2020.

RUSSELL, D. C.; MILLAR, E. J.; BAILLIE, K. J. Clinical evidence does not support corticosteroid treatment for 2019-CoV lung injury. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 473-475, 2020.

SAIKI, R. K.; GELFAND, D. H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S. J.; HIGUCHI, R.; HORN, G. T.; MULLIS, K. B.; ERLICH, H. A. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. **Science**. v. 239, n. 4839, p. 487-91, Jan, 1988.

SANTOS, C. F.; SAKAI, V. T.; MACHADO, M. A. A. M.; et. al. Reverse transcription and polymerase chain reaction: principles and applications in dentistry. **Journal of Applied Oral Science**. v.12. n.1, 2004.

SANTOS, V. A.; RAFAEL, M. M.; SABINO, E. C.; et. al. Sensitivity of the Wondfo One Step COVID-19 test on using serum samples. **Clinics**, v. 75, p. 19-20, 2020.

SBAC-Sociedade Brasileira de Análises Clínicas. **Métodos laboratoriais para diagnóstico da COVID-19**. 2020 Disponível em: <<https://www.sbac.org.br/blog/2020/03/25/metodos-laboratoriaispara-diagnostico-da-covid-19/>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

SETHURAMAN, N.; JEREMIAH, S. S.; RYO, A.; Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. **JAMA**, v. 323, n. 22, p. 2249-2251, 2020.

SHANG, J.; YE, G.; SHI, K.; et. al. Structural basis of receptor recognition by SARS-CoV-2. **Nature**, v. 581, n. 7807, p. 221-224, 2020.

SINGHAL, T. A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19). **The Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 4, p. 281-286, 2020.

SOUSA, F. C. B.; SILVA, L. C. N. T.; SOUSA, M. A. A.; SANTANA, M. A. A., SILVA, R. B. Protocolos utilizados para diagnósticos de COVID-19. **Revista da FAESF**, vol. 4, p. 35-39, Junho, 2020.

SOUSA, F. C.; SILVA, L. C. N. T.; SOUSA, M. A. A.; et. al. Protocolos utilizados para diagnóstico de COVID-19. **Revista da FAESF**, v. 4, p. 35-39, 2020.

SOUTO, X. M. COVID-19: Aspectos gerais e implicações globais. **RECITAL - Revista de Educação, Ciência e Tecnologia de Almenara**, v. 2, n. 1, p. 12-36, jan/abr. 2020.

Stanford Health Care. **Covid-19 Specimen Collection & Handling: Covid-19 Sars-CoV-2 RT-PCR molecular testing**. 2020 Disponível em: <<https://stanfordhealthcare.org/health-care-professionals/covid-19-test/covid-19-olecular-testing.html>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

UDUGAMA, B.; KADHIRESAN, P.; KOZLOWSKI, H. N. MALEKJAHANI, A.; OSBORNE, M.; LI, V. Y. C.; CHEN, H.; MUBAREKA, S.; GUBBAY, J. B.; CHAN, W. C. W. Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. **ACS Nano**. 2020

VELOSO, A. C. C.; PEIXOTO, F. G. S. A importância da Biologia Molecular no diagnóstico de SARS-CoV-2. **Revista Científica Multidisciplinar: O Saber - RCMOS**, v. 3, n. 3, 2021.

VIEIRA, L. M. F.; EMERY, E.; ANDRIOLO, A. COVID-19 - Diagnóstico Laboratorial para Clínicos. São Paulo: **SciELO**. 2020.

WANG, C.; HORBY, P. W.; HAYDEN, F. G.; GAO, G. F. A novel coronavirus outbreak of global health concern. **The Lancet**, v. 395, n. 10223, p. 470-473, 2020.

WANG, Q.; DU, Q.; GUO, B.; et al. A Method to Prevent SARS-CoV-2 IgM False Positives in Gold Immunochromatography and Enzyme-Linked Immunosorbent Assays. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 6, p. 1-7, jun. 2020.

WANG, Y.; SUN, S.; SHEN, H.; et. al. Cross-reaction of SARS-CoV antigen with autoantibodies in autoimmune diseases. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 1, n. 4, p. 304-307, 2004.

WHO. **Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. 2020.** p. 2–3. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

WHO. **Immunity passports” in the context of COVID-19.** Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2020. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331866/WHO-2019-nCoV-Sci_Brief-Immunity_passport-2020.1-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y

WHO-World Health Organization. **Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases.** 2020 Disponível em: <[https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-in-suspected-human-cases-interim-guidance](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-(2019-ncov)-in-suspected-human-cases-interim-guidance)> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

WOLOSHIN, S.; PATEL, N.; KESSELHEIM, A. S. False Negative Tests for SARS-CoV-2 Infection — Challenges and Implications. **The New England Journal of Medicine: Research & Review**, v. 383, n. 6, p. 38, 2020.

WORLDOMETER. **COVID-19 Coronavirus Pandemic: Confirmed Cases and Deaths by Country, Territory, or Conveyance.** 2020. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries>. Acesso em: 20 de setembro de 2021.

WU, C.; LIU, Y.; YANG, Y.; et. al. Analysis of therapeutic targets for SARS-CoV-2 and discovery of potential drugs by computational methods. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 10, n. 5, p. 766-788, may, 2020.

WU, J.; WU, X.; ZENG, W.; et. al. Chest CT Findings in Patients with Coronavirus Disease 2019 and Its Relationship with Clinical Features. **Investigative radiology**, v. 55, n. 5, p. 257–261, 2020.

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA**, 323, n. 13, p. 1239 - 1242, 2020.

XAVIER, A. R. SILVA, J. S. ALMEIDA, J. P. C. L. CONCEIÇÃO, J. F. F. LACERDA, G.

KANAAN, S. COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. **Jornal Brasil Patologia Medicina Laboratorial**, v. 56, p. 1-9, 2020.

YAN, G.; LEE, C. L.; LAM, L. T.; et al. Covert COVID-19 and false-positive dengue serology in Singapore. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 5, p. 536, 2020.

YING, L.; PING, L.; BO, D.; et. al. Diagnostic Indexes of a Rapid IgG/IgM Combined Antibody Test for SARS-CoV-2. **MedRxiv**. 2020; Disponível em:

<<https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.26.20044883v1.full.pdf>> Acesso em: 10 de outubro de 2021.

ZAIDI, M. B.; BARRON, L. C.; ALMEIDA, M. E. G.; et al. Serological tests reveal significant cross-reactive human antibody responses to Zika and Dengue viruses in the Mexican population. **Acta Tropica - Journals**, v. 201, 2020.

ZHANG, W.; QIAN, B. Making decisions to mitigate COVID-19 with limited knowledge. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 10, p. 1121-1122, 2020.

ZHENG, J. SARS-coV-2: An emerging coronavirus that causes a global threat. **International Journal of Biological Sciences**, vol. 16, no. 10, p. 1678–1685, 2020.

ZHOU, F.; YU, T.; DU, R.; et. al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. **The Lancet**, v. 395, n. 10229, p. 1054-1062, 2020.

ZHU, N.; ZHANG, D.; WANG, W.; et. al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. **New England Journal of Medicine**, v. 382, p. 727-733, 2020.

ZOU, L.; RUAN, F.; HUANG, M.; et al. SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. **New England Journal of Medicine**, v.382, n. 12, p. 1177-1179, 2020

ZUMLA, A.; CHAN, J. F. W.; AZHAR, E. I.; et. al. Coronaviruses—drug discovery and therapeutic options. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 15, n. 5, p. 327-347, 2016.

Como citar este artigo (Formato ABNT):

COSTA, Thalia Fernanda Araújo; MENDONÇA, Vanessa Fernandes; SANTOS, Thalita Grazielly; PÁDUA, Karina Maciel. Atualização Diagnóstica para a Covid-19. **Id on Line Rev. Psic.**, Outubro/2023, vol.17, n.68, p. 351-384, ISSN: 1981-1179.

Recebido: 28/07/2023; Aceito 09/08/2023; Publicado em: 31/10/2023.