

REDE
CoVida
Ciência, Informação
e Solidariedade

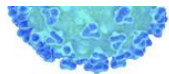


Testes diagnósticos da COVID-19

Bases das indicações e seus usos

abril de 2020





Sumário

Testes disponíveis para diagnóstico da COVID-19	3
Indicação do uso dos testes no manejo dos pacientes	4
Indicações do uso dos testes em saúde pública	8
Testes em massa visando isolamento precoce dos indivíduos positivos	11
Identificação de contatos de casos confirmados	11
Diagnóstico etiológico de sintomáticos	11
Anexo	14
Cautela em relação à interpretação de proteção pela IgG	14

Testes disponíveis para diagnóstico da COVID-19

Até o dia 09 de abril de 2020, o Brasil registra mais de 16.000 casos confirmados de COVID-19 em todos os estados do país e com tendência de crescimento do número de casos. Há, também, uma reconhecida escassez de testes diagnósticos em todo o país, o que indica que o número real de casos é maior que o de casos confirmados. Este texto traz informações sobre os testes usualmente realizados para a COVID-19 e como os resultados de tais testes ajudam a entender o curso da doença individualmente e o curso da epidemia na área da saúde pública.

Há duas modalidades de testes:

- os usados para identificar a presença do RNA (ácido ribonucleico) do vírus e
- os utilizados para detecção dos anticorpos formados pelo ser humano contra o vírus.

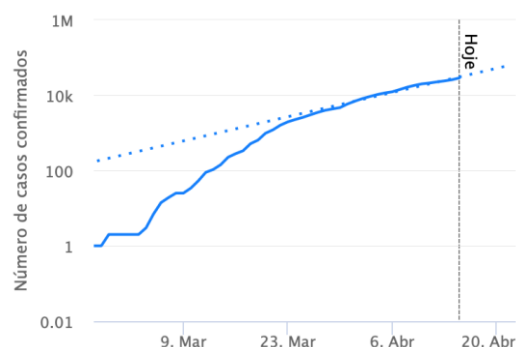
O tipo de teste usado hoje no Brasil para a identificação do RNA do SARS-CoV-2 (o vírus causador da COVID-19 e conhecido como novo coronavírus) é a reação em cadeia de polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR). O teste positivo indica que a pessoa testada está com o vírus presente no seu organismo.

Para a detecção, no soro, de anticorpos humanos contra o vírus SARS-CoV-2, os testes mais difundidos no Brasil, são testes imunocromatográficos em cartucho, comumente designando por teste rápido. As duas classes de anticorpos detectadas neste teste são a imunoglobulina M (IgM) e a imunoglobulina G (IgG), e em alguns casos a IgA, específicas contra o SARS-CoV-2.

Um estudo usando uma abordagem imunocromatográfica para detecção combinada de IgM e IgG relata uma sensibilidade em casos confirmados (por RT-PCR) de 11,1% entre 1-7 dias de infecção,

Brasil			
CASOS CONFIRMADOS	ÓBITOS	POPULAÇÃO	CASOS POR 100 MIL HAB
28642	1747	211.8M	13.53

<http://www.covid19br.org> em 15/abril/2020



de 92,9% de 8-14 dias e de 96,8% após 15 dias. Adicionalmente, o teste imunocromatográfico foi positivo em 43,6% dos casos suspeitos de serem falso-negativos pelo RT-PCR. Contudo, o estudo testou apenas 134 amostras obtidas de 105 pacientes (48H:57M) entre 20 e 96 anos (mediana de 58 anos), de um hospital na China¹.

O teste rápido apresenta vantagem em termos de rapidez e facilidade de execução, contudo os testes de imunossorvente ligado à enzima (ELISA) tendem a apresentar maior sensibilidade.

Outro tipo de testes que detecta anticorpos são os testes de imunossorvente ligado à enzima (ELISA) que tendem a apresentar maior sensibilidade do que os testes rápidos, mas são de execução mais laboriosa e demorada.

	Detecção material viral		Detecção da RI	
	Direto (RT-PCR)	ELISA	Rápido	
Equip	Sofisticado; Pouca disponib	Média sofist; Média disponib	Leitura visual	
Capacit.	Alta	Média	Baixa	
Tempo p/resultado	> 4hs	1-2 hs	15-30 min	
Sensib/Especif	M/A	A/M Avaliar nas condições locais	M/M Avaliar nas condições locais	

Os resultados dos dois tipos de teste se complementam para entender o estágio de infecção e de resistência dos indivíduos. Quando utilizados em larga escala na população ou em grupos bem caracterizados, os testes também fornecem informações importantes para entender a transmissão do vírus e o percentual de resposta antiviral desenvolvida nas populações.

Indicação do uso dos testes no manejo dos pacientes

Além das características intrínsecas dos testes, necessitamos considerar os aspectos do curso da infecção/doença para o emprego apropriado de cada modalidade de teste. Precisamos conhecer

¹ <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.03.13.20035428v1>

os sítios onde há a presença do SARS-CoV-2 no organismo nas distintas etapas da infecção/doença. Adicionalmente, necessitamos conhecer quando ocorre o início da resposta imune humoral (produção de IgM e IgG, principalmente) e se estes anticorpos são capazes de neutralizar a atividade viral.

Os trabalhos mais consistentes sobre a cinética da carga viral e da resposta imune do hospedeiro são o de Wolfel et al.² e o de Tan et al. com dados da Alemanha e da China. Os estudos são importantes pois relacionam os dados de carga e atividade viral, além de dados da resposta imune, com as manifestações clínicas.

No trabalho de Wolfel et al., realizado na Alemanha, 9 pacientes foram minuciosamente estudados. O trabalho trouxe conclusões sobre aspectos importantes da distribuição, cinética e infecciosidade viral:

- O vírus foi facilmente isolado durante a primeira semana do início dos sintomas (em amostras obtidas da garganta e de pulmão a partir do quarto dia do início dos sintomas - D4);
- **A disseminação do vírus na faringe é elevada no D4 pós-início dos sintomas** e, neste período, o vírus ativo (com capacidade de infectar) é facilmente isolado nas amostras;
- Não houve diferença nas cargas virais ou taxa de detecção na comparação de amostras de oro- ou naso-faringe;
- Ocorre replicação ativa do vírus na garganta até o D5 após o início dos sintomas;
- **Nenhum isolado viral foi obtido das vias aéreas superiores após o D8 do início dos sintomas**, mesmo com carga de RNA viral elevada;
- O vírus não é encontrado no sangue ou na urina;
- **Não se encontra vírus ativo nas fezes**, embora exista uma concentração elevada de RNA viral.

² Wölfel, R., Corman, V.M., Guggemos, W. et al. Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature* (2020). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>

O trabalho de Tan e cols.³ com dados da China envolveu uma coorte prospetiva de 67 pacientes, com análise de amostras de swab nasofaríngeo, escarro, sangue, urina e fezes, com os seguintes principais achados:

- Duração mediana da presença do RNA viral de 12 dias na nasofaringe; 19 dias no escarro e 18 dias nas fezes;
- Presença do vírus em 5,6% das amostras de urina e de 5,7% nas de plasma;
- Capacidade de disseminação da infecção mais prolongada (maior carga viral, por mais tempo) nos pacientes graves que nos não-graves;
- A tosse, e não a febre, se correlacionou com maior carga viral nas amostras respiratórias;
- A produção de IgM anti-viral se iniciou no D7 e teve pico no D28;
- A positividade de IgG se iniciou no D10 com pico no D49 do início dos sintomas.

Outro aspecto importante é a indicação que a carga viral dos indivíduos assintomáticos é similar a dos pacientes sintomáticos, o que reforça a possibilidade de transmissão pelos assintomáticos e reforça os relatos de transmissão desde o início da infecção⁴. Há também outros estudos que reforçam a diferença de carga viral de acordo com o quadro clínico, sendo que os casos mais graves apresentam uma média 60 vezes maior que os casos moderados⁵. A dinâmica da transmissão não está totalmente conhecida o que dificulta o desenho da melhor abordagem para realizar a detecção viral.

Conforme já mencionado, a avaliação de indivíduos na fase inicial da COVID-19 (até o D7 a partir do início dos sintomas), emprega-se o teste de detecção de material genético viral, o RT-PCR, enquanto os testes que avaliam a resposta imune do paciente (elevação de IgM e/ou IgG) podem ser úteis após o D7 e apresentam melhor desempenho após o D14.

³ Tan, W et al. Viral Kinetics and Antibody Responses in Patients with COVID-19. MedRxiv doi 10.1101/2020.03.24.20042382

⁴ NEJM foi: 10.1056/NEJMc2001737

⁵ Viral dynamics in mild and severe cases of COVID-19. Yang Liu March 19, 2020 DOI: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30232-2](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30232-2)

Assim, com bases nestes e outros estudos⁶, em termos médios os testes indicados para cada período da COVID-19 podem ser resumidos no quadro abaixo:

Dias pós-contágio	1-7	8-14	14-28
RT-PCR			
Teste sorológico			

De forma mais precisa, com base em Kucirka et al.,⁷ as indicações são:

Solicitar o RT-PCR, idealmente, 3 a 5 dias após o aparecimento dos primeiros sintomas e não solicitá-lo 14 dias após o início dos sintomas;

Solicitar o teste sorológico somente 8 dias após o início dos sintomas. Entre 8 e 14 dias, ocorre uma elevada frequência de testes falso-negativos. Após 14 dias do início dos sintomas, praticamente todos os indivíduos infectados apresentam teste sorológico positivo.

No momento, não há testes sorológicos rápidos com bom desempenho, pelo que deve ser dada preferência à realização da reação de ELISA>

Podemos sugerir com base nestes achados que:

- O **RT-PCR** deve ser solicitado somente **entre 3 e 7 dias** após o início dos sintomas;
- Para o RT-PCR, deve ser colhido o **material de oro-faringe ou escarro** (não usar sangue nem urina);
- O teste para **deteção de anticorpos** (teste rápido ou ELISA) só deve ser solicitado **após 7 dias** do início dos sintomas.

⁶ Liu, Let al. A preliminary study on serological assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 admitted hospital patients. MedRxiv 2020 doi: 10.1101/2020.03.06.20031856;

Pan Y et al. Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. MedRxiv 10.1101/2020.03.13.20035428;

Okba, N et al. SARS-CoV-2 specific antibody responses in COVID-19 patients. MedRxiv doi 10.1101/2020.03.18.20038059

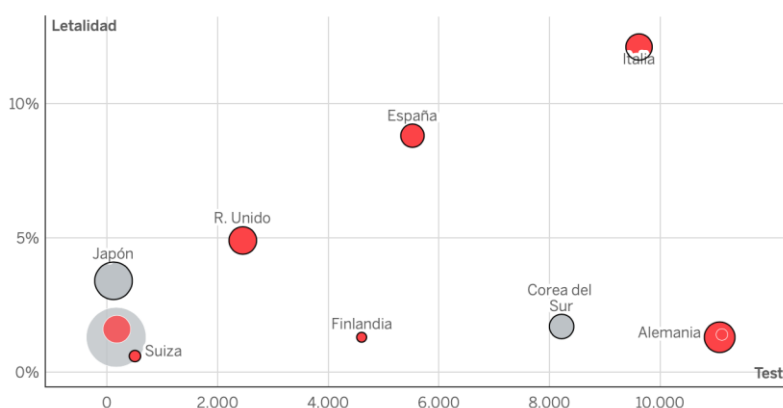
⁷ Kucirka, L., Lauer, S., Laeyendecker, O., Boon, D., Lessler, J. Variation in False Negative Rate of RT-PCR Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure <https://dx.doi.org/10.1101/2020.04.07.20051474>

Indicações do uso dos testes em saúde pública

O RT-PCR ajuda a determinar e quantificar a transmissão comunitária. A sua especificidade permite excluir as infecções por outros vírus dos protocolos de isolamento hospitalar. Além disto, o RT-PCR indica a presença de partícula virais infecciosas e pode orientar a liberação dos pacientes após a confirmação repetida do teste. A liberação dos curados pode ocorrer como alta hospitalar, nos casos moderados a graves, ou na transição do distanciamento social nos casos leves ou assintomáticos, permitindo o retorno ao trabalho.

Os testes imunocromatográficos rápidos e ELISAs para IgM e IgG possibilitam avaliar a exposição dos indivíduos ao vírus, determinar a taxa de ataque da doença em grupos específicos e populações e no curso da epidemia, determinar os indivíduos imunologicamente protegidos e capazes de retomar as suas atividades.

A identificação precoce de casos e a identificação de indivíduos infectados assintomáticos mas que não desenvolvem sintomas são realizadas com o uso de testes voltados para a identificação do RNA viral pela técnica da reação em cadeia da polimerase por transcrição reversa (RT-PCR). Da mesma forma, este teste, quando aplicado amplamente na população, permite identificar as pessoas infectadas e promover o seu isolamento (conhecido como



<https://bit.ly/2JOiNvr> El Pais em 07/abril/2020

isolamento seletivo) para impedir que transmitam os vírus. Quando este teste não pode ser aplicado de forma extensiva, a alternativa disponível é o distanciamento social generalizado.

Devemos ressaltar que os testes rápidos para detecção de anticorpos disponíveis têm apresentado problemas, como ressaltam os exemplos da Espanha e do Reino Unido que devolveram aos fabricantes grandes lotes devido a problemas de sensibilidade e especificidade. Ressalta-se, ainda a análise do Professor Sir John Bell, GBE, FRS, *Regius Professor of Medicine*

Oxford University, no seu texto "Trouble in testing land"⁸ onde afirma: "*Sadly, the tests we have looked at to date have not performed well. We see many false negatives (tests where no antibody is detected despite the fact we know it is there) and we also see false positives. None of the tests we have validated would meet the criteria for a good test as agreed with the MHRA.*"

A estratégia de isolamento seletivo é altamente dependente de um número muito grande de testes. Os países que conseguiram, com essa estratégia, alterar significante a curva de crescimento da epidemia utilizaram grande número de testes. A figura mostra que países como a Alemanha e a Coreia do Sul fizeram mais de 8.000 testes por milhão de habitantes. Contudo, **não basta fazer muitos testes.** A Itália, que realizou mais de 9.000 testes por milhão de habitantes, não controlou bem a epidemia. É de extrema importância planejar o uso adequado dos testes em relação às medidas a serem adotadas. Para o enfrentamento adequado da epidemia é **necessário que os resultados dos testes orientem estratégias viáveis.**

O artigo recente da Science de 08 de abril de 2020 "*Effective containment explains subexponential growth in recent confirmed COVID-19 cases in China*"⁹ claramente afirma que o controle da epidemia se deve às medidas de contenção social. De forma complementar, o editorial "*Humanity tested*"¹⁰ da Nature Biomedical Engineering (também de 08/abril/2020) indica, com base em dados sólidos de diversos países, que "*The world needs mass at-home serological testing for antibodies elicited by SARS-CoV-2, and rapid and frequent point-of-care testing for the presence of the virus' RNA in selected populations.*" O texto reforça a idéia que testes em massa e medidas de isolamento salvam vidas da COVID-19. Considerando a baixa disponibilidade de testes no Brasil, necessitamos empregá-los cuidadosamente e respeitar com rigor as medidas de distanciamento social. Estudos bem conduzidos sobre a dispersão do SARS-CoV-2 e sobre o desenvolvimento de imunidade na população serão fundamentais para orientar as medidas durante a transição para saída da quarentena.

As dificuldades em diagnosticar o SARS-CoV-2 no Brasil incluem:

⁸ <https://www.research.ox.ac.uk/Article/2020-04-05-trouble-in-testing-land>

⁹ Maier, B., Brockmann, D. (2020). Effective containment explains subexponential growth in recent confirmed COVID-19 cases in China. Science. <https://dx.doi.org/10.1126/science.abb4557>

¹⁰ Humanity tested. Nat Biomed Eng (2020). <https://doi.org/10.1038/s41551-020-0553-6>

- a baixa capacidade nacional de produção, montagem e distribuição de kits de testagem moleculares;
- a dificuldade de aquisição de insumos internacionalmente, pois países desenvolvidos têm consumido vorazmente todo o suprimento de reagentes produzidos;
- a dificuldade técnica na coleta do swab da oro/nasofaringe;
- a necessidade de processar as amostras em ambiente de elevada segurança;
- o reduzido número de laboratórios de referência com capacidade de realização de diagnósticos distribuídos no país, restritos principalmente a rede de laboratórios centrais (LACEN) em cada estado;
- a limitada formação de recursos humanos com alta capacidade para executar os testes moleculares.

Nos últimos dias, o Ministério da Saúde (MS) e a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) aumentaram a produção de kits de testagem moleculares. O MS também tem tomado medidas para ampliar o número de laboratórios credenciados para testagem de SARS-CoV-2, incluindo laboratórios de pesquisa e a rede de laboratórios de apoio ao diagnóstico de HIV e hepatites virais. Apesar destes esforços, o cenário mais provável é que o número de testes disponíveis não seja suficiente para atender idealmente a demanda. Nesta situação é recomendável maximizar o uso dos testes disponíveis, identificando os sub-grupos populacionais que devem ser priorizados.

A limitada disponibilidade de testes diagnósticos dificulta o enfrentamento da epidemia em diversos níveis. Afeta o diagnóstico individual e a identificação de contatos o que impede a tomada de decisões embasadas sobre as prioridades de ação. Ademais, se não corrigida, a insuficiência de testes laboratórios limitará o reconhecimento dos indivíduos que desenvolveram imuno-proteção e, assim, aptos a reassumir as suas atividades. O aumento rápido de testes diagnóstico nos diversos pontos do país deve se constituir numa prioridade urgente para as autoridades de saúde.

O uso de testes em saúde pública tem três indicações:

- 1) Testes em massa visando o isolamento precoce de indivíduos positivos
- 2) Identificação de contatos de casos confirmados
- 3) Diagnóstico etiológico de sintomáticos

Testes em massa visando isolamento precoce dos indivíduos positivos

Há evidência do papel importante de indivíduos assintomáticos na transmissão do SARS-CoV-2¹¹. Considerando a etapa atual da epidemia nas grandes cidades brasileiras, o teste necessitaria ser aplicado em grande número.

Aspectos que desaconselham o uso desta estratégia:

- Para identificação precoce só são apropriados os testes diretos, que requerem mais tempo de execução e do uso de equipamentos mais sofisticados;
- Ainda que seja possível aumentar expressivamente a disponibilidade dos testes, a limitação de pessoal capacitado torna esta opção inviável.

Identificação de contatos de casos confirmados

Esta abordagem, com o uso do RT-PCR, foi útil antes da fase de aceleração da epidemia. Na situação atual com muitos casos, será de execução muito difícil no Brasil, tanto pela restrição do número de testes quanto pela lentidão da realização das análises. Se somarmos a isto a confirmação da transmissão por indivíduos assintomáticos, a identificação de contatos, além de inviável, pode ter utilidade muito reduzida.

Diagnóstico etiológico de sintomáticos

A confirmação etiológica através da detecção do genoma viral é desejável por razões epidemiológicas mas, numa situação de epidemia agravada pela limitação do número de testes, será recomendável somente quando o resultado do teste puder influenciar a conduta clínico-terapêutica. A frequência de co-infecção SARS-CoV-2 e H1N1 está em torno de 1,6%¹². A distinção

¹¹ <https://dx.doi.org/10.1126/science.abb3221>

¹² Bordi L, Nicastri E, Scorzolini L, et al. Differential diagnosis of illness in patients under investigation for the novel coronavirus (SARS-CoV-2), Italy, February 2020. *Euro Surveill.* 2020;25(8):2000170. doi:10.2807/1560-7917.ES.2020.25.8.2000170

de casos de COVID-19 dos casos graves de influenza pode ser feita pela realização do teste para influenza sem necessidade de realização do teste de detecção de SARS-CoV-2.

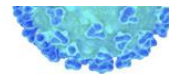
Deve ser melhor avaliada a necessidade de distinção dos casos de COVID-19 daqueles de patologias com sintomatologia similar e nas quais há recomendação para uso de corticoide, como a pneumocistose. Devemos mencionar que no clinicaltrials.gov há dois ensaios em andamento (consulta em 30/03/2020¹³) para avaliar a eficácia e segurança de corticoide em casos de pneumonia por COVID-19. O estudo chinês testa a metilpredisolona e o ensaio australiano testa a hidrocortisona. Será elaborado um desenho de estudo que permita a comparação dos três esquemas para orientar a adoção do esquema com maior taxa de detecção.

Enfatizamos a gestores e aos profissionais de comunicação que as opiniões e ideias manifestadas neste documento são de seus respectivos autores e da Rede CoVida, e não, necessariamente, representam aquelas das instituições a que pertencem os seus membros.

Recomendações do uso de testes da COVID-19 em Saúde Pública

- Há grande necessidade da **expansão de testes de detecção viral (RT-PCR)** para orientar as estratégias de limitação da propagação da infecção e para a identificação precoce de infectados no período após a primeira onda da epidemia;
- É imperioso o desenvolvimento de **teste sorológico confiável** para monitorar o desenvolvimento de resposta imune;
- O emprego do teste sorológico rápido deverá ser **empregado para tomada de decisão somente após apropriada validação em campo**;
- O teste sorológico deverá ser utilizado para **identificar os indivíduos e populações expostos e recuperados**, com possibilidade de retorno às atividades regulares.

¹³ (https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=COVID-19&term=&type=&rslt=&age_v=&gndr=&intr=Corticoids&titles=&outc=&spons=&lead=&id=&cntry=&state=&city=&dist=&locn=&rsub=&strd_s=&strd_e=&prcd_s=&prcd_e=&sfpd_s=&sfpd_e=&rfpd_s=&rfpd_e=&lupd_s=&lupd_e=&sort=



Elaboração:

GT Patogênese e Diagnóstico: Claudia Nunes Duarte Santos; Daniela Pinto Coelho; Humberto França Ferraz de Oliveira; José Mengel; Manoel Barral Netto; Natalia Machado Tavares; Pablo Rafael Silveira Oliveira; Ricardo Khouri; Samuel Goldenberg; Sofia Andrade de Oliveira; Theo de Araújo Santos; Thiago Silva; Ursula Costa; Viviane Boaventura

Anexo

Cautela em relação à interpretação de proteção pela IgG

Embora vários artigos se refiram à presença de IgG anti-SARS-CoV-2 como protetora devemos manter uma atitude cautelosa neste aspecto. Um estudo recente (ainda em estágio de revisão), com dados de 175 pacientes com quadros moderados de COVID-19, da China, mostrou que 25% deles exibiu uma baixa produção de anticorpos neutralizantes e que 5% não chegaram a desenvolver este tipo anticorpos¹⁴. Caso se confirme que aproximadamente um terço dos casos moderados de COVID-19 não montam uma resposta imune protetora, devemos considerar que o desenvolvimento de "imunidade de rebanho" pode não coincidir com a soroprevalência.

Há relato de **reação cruzada (IgM e IgG) em dois pacientes com a resposta para dengue** em alguns testes de detecção da resposta sorológica¹⁵. A situação endêmica da Dengue no Brasil pode resultar em que pacientes com Dengue apresentem resultados falso-positivos no teste sorológico para SARS-CoV-2, não indicando, assim, resposta imune contra o SARS-CoV-2.

Adicionalmente, mesmo na ausência de reação cruzada, **a positividade no teste sorológico nem sempre indica proteção e pode, mesmo ter efeito deletério**. Há um relato sólido (embora seja realizado em modelo primata não-humano e SARS-COV), que a presença de IgG anti-espícula viral antes da eliminação do vírus prejudicou a resposta protetora e a cura do dano residual e promoveu uma resposta inflamatória (produção de MCP-1 e IL-8) e acúmulo tecidual de macrófagos pró-inflamatórios¹⁶. Pacientes infectados por SARS-COV que evoluíram para êxito letal mostravam infiltração pro-inflamatória e aparecimento mais acelerado de anticorpos. O soro destes pacientes induziu a produção de moléculas inflamatórias e este efeito era mediado por anticorpos (o efeito foi reduzido pelo bloqueio do receptor da porção Fc da IgG - FcGamaR). É também importante mencionar que o Centro de Controle e Prevenção de Doenças da Coreia do Sul informou que 91 pacientes infectados e tidos como recuperados, após testes de RT-PCR

¹⁴ MedRxiv <https://doi.org/10.1101/2020.03.30.20047365>

¹⁵ Lancet Infect Dis 2020. March 4, 2020 doi: 10.1016/S1473-3099(20)30158-4

¹⁶ JCI 2020; doi 10.1172/jci.insight.123158

negativos, voltaram a ficar positivos¹⁷. Devemos considerar a possibilidade que a imunidade protetora não seja muito eficiente, embora existam outras possibilidades de explicação.

¹⁷ <https://uk.reuters.com/article/us-health-coronavirus-southkorea/south-korea-reports-recovered-coronavirus-patients-testing-positive-again-idUKKCN21S15X>