



COVID 19.

INFORMAÇÕES IMPORTANTES AOS LABORATÓRIOS CLÍNICOS.

1. Contextualização

Em dezembro de 2019, o mundo foi surpreendido com uma nova infecção sem agente etiológico definido situada em Wuhan, China. Essa infecção causava uma pneumonia que levava a rápida depreciação da função respiratória, evoluindo para quadro de síndrome respiratória aguda (SARS, do inglês Severe Acute Respiratory Syndrome) (1). No mês de janeiro de 2020, foi descrito que o agente etiológico da relatada pneumonia era da família Coronaviridae, recebendo a patologia associada o nome de coronavirus disease (COVID-19) e o agente etiológico severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) (2, 3). Nos meses de janeiro a março, o vírus se espalhou pelo mundo, levando a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar no dia 11 de março de 2020, estado de pandemia causada pelo SARS-CoV-2 (4). O que colaborou para que o vírus causasse uma pandemia é o fato dele ser transmitido pelo ar, além de que pessoas infectadas assintomáticas também podem transmiti-lo (5). Uma vez dentro do organismo, o vírus promove a interação com a membrana plasmática da célula do organismo humano através de uma glicoproteína de superfície denominada "spikes" que interage com o receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), para que possa entrar com seu material genético dentro da célula e iniciar o processo de replicação viral (6). O diagnóstico conclusivo da infecção pelo SARS-CoV-2 é realizado através da técnica de reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR, do inglês Real Time – Polimerase Chain Reaction) (7), mas por ser uma técnica onerosa e que despende de recursos escassos em países como o Brasil, vários pacientes permanecem sem o correto diagnóstico. Deste modo, o objetivo deste trabalho é avaliar possíveis achados laboratoriais descritos na literatura que possam corroborar com a clínica do paciente, afim de facilitar o diagnóstico presuntivo da infecção causada pelo SARS-CoV-2.

2. Exames para diagnóstico da infecção do SARS-CoV-2

2.1. Testes moleculares:

Segundo protocolo da OMS, os testes de amplificação de ácido nucleico (NAAT, do inglês Nucleic Acid Amplification Teste), como a técnica de RT-PCR, devem ser utilizados para diagnosticar a infecção causada pelo SARS-CoV-2 (8).

Assim, a entidade preconiza que pacientes provenientes de áreas com circulação conhecida do vírus, como é o caso do Brasil, são considerados positivos quando apresentarem resultado positivo para a amplificação de apenas uma região alvo do RNA viral.

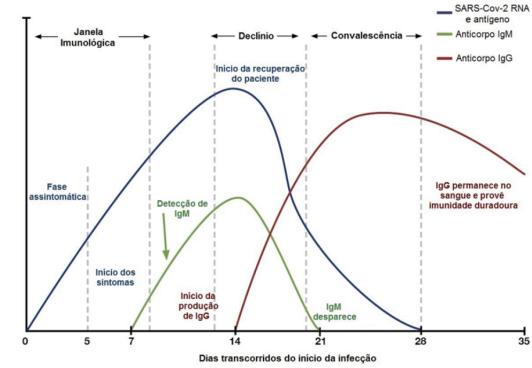
Para os testes de RT-PCR, o Centro de Controle de Doenças (CDC, do inglês Centers for Disease Control and Prevention), preconiza que as amostras devem ser coletadas com o uso de swab nas regiões de orofaringe e nasofaringe (9). A recomendação do CDC é baseada em uma ampla literatura, que demonstra com clareza que amostras positivas oriundas dos sítios referidos acima, possuem uma excelente assertividade quanto à infecção causadas por vírus da família Coronaviridae (10-12).

Buscando outras amostras que possam ser utilizadas em testes NAAT, o estudo de Xie et. al., comparou os resultados obtidos através de amostras de fezes, urina e sangue com os resultados obtidos por swab de orofaringe. Ainda que o trabalho tenha avaliado uma população positiva de apenas 9 pacientes, o estudo demonstrou que apenas as amostras de fezes tiveram uma boa correlação com os resultados obtidos por swab de orofaringe, sendo encontrado a mesma positividade em 8 dos 9 pacientes analisados. Amostras de sangue e urina não apresentaram correlação com os resultados das análises de swab de orofaringe (13).

2.2. Exames sorológicos

Os anticorpos produzidos frente a infecção causada pelo SARS-CoV-2 começam a ser observados após os sintomas, sendo a imunoglobulina M (IgM) detectável após o sétimo dia de infecção e a imunoglobulina G (IgG) após o décimo quarto dia do início da infecção, conforme representado na figura 1.

Figura 1: Variação dos níveis de antígeno e anticorpos após a infecção por SARS-CoV-2.



Adaptado de Dyazime (14).

Dado o esquema representado na figura acima, podemos avaliar a progressão da doença nos pacientes associando os resultados da análise de antígeno e anticorpos. As possibilidades diagnósticas estão demonstradas na tabela 1.

Tabela 1: Possibilidades diagnósticas utilizando exames de antígeno e anticorpos para a infecção pelo SARS-CoV-2.

Teste laboratorial	RT-PCR	IgM	IgG	Significado Clínico
+	-	-	-	O paciente pode estar no período de janela imunológica
+	+	-	-	O paciente pode estar no inicio da infecção
+	+	+	-	O paciente está na fase ativa da infecção
+	-	+	-	O paciente pode estar na fase tardia ou em reinfeção
-	+	-	-	O paciente pode estar no inicio da infecção; o resultado do RT-PCR pode ser falso-negativo
-	-	+	-	O paciente pode ter contruído a infecção no passado e está recuperado
-	+	+	-	O paciente pode estar no inicio da recuperação; o resultado do RT-PCR pode ser falso-negativo

Adaptado de Dyazime (14).

2.3. Exames convencionais com valor preditivo para infecção por SARS-CoV-2:

O Ministério da Saúde, através da Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde, publicou no dia 06 de abril desse ano um documento intitulado “Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19”, onde é possível encontrar uma série de revisões sistemáticas utilizando o Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (15). Baseado nos artigos selecionados através dessas revisões, o documento sugere que pacientes com suspeita de infecção pelo SARS-CoV-2 podem ser avaliados com determinados testes laboratoriais que, ainda que não tenham especificidade para diagnosticar a infecção, auxiliem no diagnóstico diferencial. Os testes, bem como a interpretação dos seus respectivos resultados, estão compilados na tabela 2.

Exame	Resultado esperado	Interpretação para SARS-CoV-2
Teste rápido para Influenza	-	Exclusão da infecção pelo vírus Influenza
RT-PCR - SARS-CoV-2	+	Confirmação diagnóstica da infecção
Ureia	↑	A elevação pode demonstrar depreciação da função renal, indicando um pior prognóstico
Creatinina	↑	A elevação pode demonstrar depreciação da função renal, indicando um pior prognóstico
Bilirrubina total e frações	↑	Geralmente encontra-se elevado em caso de infecção
D-dímero	↑	Pode indicar que o paciente irá evoluir com um pior prognóstico
Hemograma	↓	Em caso de infecção, pode demonstrar leucopenia, linfopenia (podendo ter linfócitos atípicos), plaquetopenia e neutrofilia
Tempo de protrombina (TP)	↑	Pode estar com o tempo elevado
Tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa)	↑	Pode estar com o tempo elevado
Procalcitonina	↑	Valores aumentados indicam infecção
Proteína C Reativa	↑	Valores aumentados indicam infecção
Tropponina I - Ultra Sensível	↑	Valores aumentados podem indicar acometimento cardíaco
Lactato desidrogenase	↑	Valores aumentados podem indicar pior prognóstico

RT-PCR, Real Time – Polymerase Chain Reaction; -, Negativo; +, Positivo; ↑, Aumentado; ↓, Diminuído.

3. Considerações sobre o cenário diagnóstico:

Ainda que os testes moleculares sejam considerados padrão ouro para o diagnóstico da infecção causada pelo SARS-CoV-2, a baixa disponibilidade dos testes, aliada à centralização em alguns laboratórios de referência, leva a várias complicações pré-analíticas que podem implicar na qualidade do resultado. Um estudo italiano enumerou várias possibilidades de erro que podem acontecer durante o processo que compreende desde a coleta do material para a análise molecular, até a acurácia do exame, destacando que a estocagem da amostra deve ser rigorosamente controlada pois é uma das principais fontes de erro do processo (16). A OMS, através do guia intitulado “Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspect human cases”, apresenta instruções para o armazenamento de diversas amostras, sobretudo para amostra coletada por swab de nasofaringe ou orofaringe, que deve ser armazenada a -70°C quando a amostra irá demorar mais de 5 dias para ser analisada (17).

A sorologia tem papel fundamental nesse contexto, sobretudo por ser mais acessível do que as técnicas moleculares, tendo como principal forma de apresentação os testes rápidos. Contudo, várias reportagens têm sido vinculadas sobre falhas em testes rápidos, levando o Ministério da Saúde a elaborar um documento onde faz um compilado de dados como sensibilidade, especificidade e precisão extraídos da instrução de uso dos diversos testes que foram registrados junto à ANVISA até a primeira quinzena de abril de 2020 (18). É possível avaliar que há variação entre a performance dos testes, ainda que, no geral, a sensibilidade dos testes sorológicos seja superior a 85% e a especificidade, superior a 94%. Como destacado pelo documento, baixos percentuais de sensibilidade podem levar a resultados falsos-negativos, implicando na falta de diagnóstico de um paciente verdadeiramente acometido pela COVID-19.

Como a oferta dos testes de biologia molecular e sorologia estão escassos em diversos países, incluindo o Brasil, há um grande esforço na busca por outros exames que possam predizer a infecção pelo SARS-CoV-2 (19, 20). Como demonstrado na tabela 2, algumas alterações em analitos tem sido descrito na literatura podem auxiliar quando agregados aos achados radiológicos e a clínica do paciente. Por se tratarem de testes inespecíficos, descartar outras causas como a infecção pelo vírus Influenza é primordial para aumentar o valor dos resultados dos testes.

A elevação dos valores de ureia e creatinina podem indicar uma redução da taxa de filtração glomerular por depreciação da função renal, sendo um achado laboratorial que indica maior possibilidade do paciente de evoluir com um prognóstico ruim, podendo chegar a óbito, conforme demonstrado por Cheng et. al. (21). Associado à alteração nos valores de ureia e creatinina, a elevação dos níveis de bilirrubina, a alteração na coagulação refletida por maiores tempos de TP e TTPa, a inflamação demonstrada pelos valores de procalcitonina, proteína C reatina e desidrogenase láctea possuem grande valor de predição de piora no quadro do paciente quando avaliados em conjunto (22, 23).

A dosagem de dímero-D, ainda que também não seja amplamente disponível no Brasil, é mais acessível que a técnica de RT-PCR e é associada a formas mais graves de infecção pelo SARC-CoV-2, sobretudo porque alguns pacientes podem desenvolver tromboembolismo pulmonar (24, 25). A dosagem de dímero-D aumentada é correlacionada com a diminuição nos tempos de TP e TTPa, que indica pior prognóstico para o paciente (26). A exemplo do dímero-D, a Troponina I ultra sensível indica um pior prognóstico, sobretudo porque está associada ao acometimento cardíaco pela COVID-19 (27).

Referências

1. World Health Organization. Pneumonia of unknown cause – China 2020. Available from: <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020-pneumonia-of-unkown-cause-china/en/>.
2. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it 2020. Available from: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
3. World Health Organization. National capacities review tool for a novelcoronavirus 2020. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/national-capacities-review-tool-for-a-novelcoronavirus>.
4. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 2020, March 11. Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
5. Guo YR, Cao QD, Hong ZS, Tan YY, Chen SD, Jin HJ, et al. The origin, transmission and clinical therapies on coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak - an update on the status. Military Medical Research. 2020;7(1):11.
6. Shereen MA, Khan S, Kazmi A, Bashir N, Siddique R. COVID-19 infection: Origin, transmission, and characteristics of human coronaviruses. Journal of advanced research. 2020;24:91-8.
7. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro surveillance : bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin. 2020;25(3).
8. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases 2020, march 19. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) 2020, april 8. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>.

As alterações no hemograma são observadas com leucopenia, linfopenia, plaquetopenia e neutrofilia. Essas variações na contagem celular, aliada ao aumento de citocinas inflamatórias como a interleucina-6, também estão associadas com um pior prognóstico do paciente (28). O achado de linfopenia é incomum por se tratar de uma infecção viral, mas o trabalho de Tan et. al. propõe quatro hipóteses para explicar a linfopenia, sendo que a primeira de que o SARS-CoV-2 infecta o linfócito e por isso diminui sua quantidade; a segunda de que o vírus ataca órgãos linfoideos como o timo e o baço; a terceira de que a desordem nas citocinas levam à apoptose dos linfócitos; a quarta de que há a inibição do metabolismo dos linfócitos (29).

Conclusão

Devido à escassez de testes moleculares e sorológicos para confirmação da infecção do novo SARS-CoV-2, outros testes laboratoriais podem ter valor quando agregados entre si e a achados radiológicos e à clínica apresentada pelo paciente. No momento onde os recursos então em falta, é de vital importância que o diagnóstico seja discutido entre todos os profissionais envolvidos no cuidado ao paciente, para que as variáveis possam ser minimizadas e o diagnóstico presuntivo seja o mais próximo da realidade.

10. Poon LL, Chan KH, Wong OK, Yam WC, Yuen KY, Guan Y, et al. Early diagnosis of SARS coronavirus infection by real time RT-PCR. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology.* 2003;28(3):233-8.
11. Hui RK, Zeng F, Chan CM, Yuen KY, Peiris JS, Leung FC. Reverse transcriptase PCR diagnostic assay for the coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *Journal of clinical microbiology.* 2004;42(5):1994-9.
12. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P, Liu Y, et al. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical chemistry.* 2020;66(4):549-55.
13. Xie C, Jiang L, Huang G, Pu H, Gong B, Lin H, et al. Comparison of different samples for 2019 novel coronavirus detection by nucleic acid amplification tests. *International journal of infectious diseases : IJID : official publication of the International Society for Infectious Diseases.* 2020;93:264-7.
14. Diazyme Laboratories I. Why Do We Need Antibody Tests for COVID-19 and How to Interpret Test Results 2020. Available from: <http://www.diazyme.com/covid-19-antibody-tests>.
15. Ministério da Saúde. Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19 2020, April 6. Available from: <https://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/07/ddt-covid-19.pdf>.
16. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clinical chemistry and laboratory medicine.* 2020.
17. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases 2020, March 2. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.
18. Secretaria de Ciência T, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde - SCTIE. Acurácia dos testes diagnósticos registrados para a COVID-19 2020, April. Available from: https://coronavirus.ceara.gov.br/wp-content/uploads/2020/04/NT_acuracia_diagnostico_COVID-19.pdf.pdf.
19. Bouadma L, Lescure FX, Lucet JC, Yazdanpanah Y, Timsit JF. Severe SARS-CoV-2 infections: practical considerations and management strategy for intensivists. *Intensive care medicine.* 2020;46(4):579-82.
20. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *The New England journal of medicine.* 2020.
21. Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney international.* 2020.
22. Napoli. MCMRACSCDRD. Features, Evaluation and Treatment Coronavirus (COVID-19). 2020, March 20.
23. Seymour CW, Kennedy JN, Wang S, Chang CH, Elliott CF, Xu Z, et al. Derivation, Validation, and Potential Treatment Implications of Novel Clinical Phenotypes for Sepsis. *Jama.* 2019;321(20):2003-17.
24. Lippi G, Favoloro EJ. D-dimer is Associated with Severity of Coronavirus Disease 2019: A Pooled Analysis. *Thrombosis and haemostasis.* 2020.
25. Xie Y, Wang X, Yang P, Zhang S. COVID-19 Complicated by Acute Pulmonary Embolism. *Radiology: Cardiothoracic Imaging.* 2020;2(2):e200067.
26. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* 2020;18(4):844-7.
27. Lippi G, Lavie CJ, Sanchis-Gomar F. Cardiac troponin I in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19): Evidence from a meta-analysis. *Progress in cardiovascular diseases.* 2020.
28. Cao X. COVID-19: immunopathology and its implications for therapy. *Nature reviews Immunology.* 2020.
29. Tan L, Wang Q, Zhang D, Ding J, Huang Q, Tang YQ, et al. Lymphopenia predicts disease severity of COVID-19: a descriptive and predictive study. *Signal transduction and targeted therapy.* 2020;5:33.

A SERVIÇO DA VIDA.

35 3214-4646
35 9 8431-0090

WWW.BIOTECNICA.IND.BR
sac@biotecnicaltda.com.br

 BioTécnica
BIOTECNOLOGIA AVANÇADA