

REVISÃO DE LITERATURA

O laboratório clínico na pandemia COVID-19

CT(S) FABIO TRIACHINI CODAGNONE*¹
1º Ten (RM2-Md) ERIC COLODETTI SPALENZA*²

Resumo: Introdução: Em março de 2020 a Organização Mundial de Saúde declarou a pandemia COVID-19 (sigla oriunda do inglês, Corona Vírus Disease), recomendando que o foco dos países deveria ser detectar, proteger, tratar e reduzir a transmissão do vírus SARS-CoV-2. A partir desse contexto, diversos métodos laboratoriais foram produzidos, comercializados e aprovados para o uso, sem que validações laboratoriais prévias fossem realizadas, o que resultou em baixa acurácia diagnóstica. **Objetivo:** Este estudo tem por objetivo realizar uma breve revisão sobre os principais métodos de diagnóstico laboratorial da infecção pelo SARS-CoV-2 (Coronavírus), técnicas utilizadas, aspectos clínico-laboratoriais e suas limitações. **Metodologia:** Nesta revisão a busca bibliográfica foi desenvolvida em bases de dados como o Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) e Scientific Electronic Library Online (SciELO) entre os meses de dezembro de 2019 a junho de 2020. Foram consultadas as seguintes palavras-chave: Diagnosis, Laboratory Test, Coronavirus Infections, Betacoronavirus, Polymerase Chain Reaction, Immunoglobulin M, Immunoglobulin G e suas respectivas traduções para o português. A partir dessa pesquisa foram selecionados 28 artigos, os quais embasaram esta revisão. **Conclusão:** A análise da literatura permite-nos concluir que a utilização sequencial de métodos diretos e indiretos apresenta-se como a melhor estratégia para um diagnóstico preciso na COVID-19.

Palavras-chave: Testes Laboratoriais; Coronavirus; Sorologia; Carga Viral.

Abstract: Introduction: By March 2020, the World Health Organization announced Corona Virus Disease (COVID-19) as a global pandemic. They encourage countries to detect, prevent and treat, to reduce the spread of SARS-CoV-2 infection. On that scenario, several laboratory tests was developed, commercialized and authorized to use, despite no performance evidence, and it reveals low diagnostic accuracy. **Objective:** This study brief a narrative review on the main methods for laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 (Coronavirus) infection, its techniques, clinical and laboratory aspects and limitations. **Methodology:** This review from bibliographic research on databases such as the Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) and Scientific Electronic Library Online (SciELO), between the months of December 2019 to June 2020. The following keywords were used for the search: Diagnosis, Laboratory Test, Coronavirus Infections, Betacoronavirus, Polymerase Chain Reaction, Immunoglobulin M, Immunoglobulin G and their translations into Portuguese. From this research, 28 articles were selected, which supported this review. **Conclusion:** The analysis of the literature shows as the best strategy for an accurate diagnosis in COVID-19 is a combined use of direct and indirect methods.

Keywords: Laboratory Test; Coronavirus; Serology; Viral Load.

Submetido em: 6/7/2020

Aprovado em: 21/9/2020

*¹Farmacêutico-Bioquímico. Encarregado da Divisão de Laboratório e Farmácia da Escola de Aprendizes Marinheiros do Espírito Santo. Mestre em Farmacologia/Neurociência pela Universidade Federal do Paraná. E-mail: codagnone@marinha.mil.br

*² Médico. Ajudante da Divisão de Medicina da Escola de Aprendizes Marinheiros do Espírito Santo. Especialista em Informática em Saúde.

INTRODUÇÃO

A COVID-19 é uma doença causada por um vírus denominado coronavírus (SARS-CoV-2) capaz de gerar um processo infeccioso com repercussões clínicas diversas, alta transmissibilidade e mortalidade considerável. Surgiu na China, em dezembro de 2019, e se expandiu muito rapidamente em diversos países no mundo.¹⁻⁴

Diante desta pandemia de repercussões incertas em diversas atividades da vida humana, estratégias têm sido direcionadas para a redução da transmissão viral, para o correto diagnóstico dos portadores assintomáticos e sintomáticos e na busca por tratamentos efetivos, o que tem exigido grandes esforços das mais diversas áreas das ciências médicas.⁵

Neste cenário, aparentemente caótico, entra o laboratório clínico fornecendo suporte às decisões clínicas e epidemiológicas.³⁻¹²

É sabido que 70% das decisões médicas são baseadas a partir de dados de exames complementares, sejam eles de análises clínicas e/ou imagem.¹³⁻¹⁵

Para que essas decisões sejam tomadas adequadamente, faz-se necessário o conhecimento pormenorizado de cada exame, de suas potencialidades e de suas limitações, de forma que idiosincrasias sejam evitadas.

Partindo das premissas anteriores, o objetivo deste artigo é fazer uma breve revisão dos principais métodos de diagnóstico laboratorial disponíveis para a COVID-19, em especial métodos diretos (detecção do vírus ou antígeno viral) e indiretos (detecção de anticorpos de diferentes classes). Os dados foram obtidos da literatura científica e selecionados com base nas percepções dos autores

a partir das experiências clínico-laboratoriais em suas rotinas diárias. As questões aqui levantadas poderão servir como base para que estudos posteriores possam ser conduzidos de forma sistemática, bem como contribuir para que a prática laboratorial seja aprimorada na COVID-19.

MÉTODOS

Trata-se de uma revisão de literatura cuja pesquisa bibliográfica foi desenvolvida em bases de dados como o Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE) e Scientific Electronic Library Online (SciELO). O período de busca ocorreu de dezembro de 2019 a junho de 2020 e foram consultadas as seguintes combinações de palavras-chave: Diagnosis, Laboratory Test, Coronavirus Infections, Betacoronavirus, Polymerase Chain Reaction, Immunoglobulin M, Immunoglobulin G e suas respectivas traduções para o português. De um universo de 76 artigos, após a leitura dos seus resumos, foram selecionados 28 que de alguma forma corroborassem com a visão crítica dos autores. Foram selecionados artigos tanto na língua inglesa, quanto na língua portuguesa. Foram acrescidos, ainda, artigos de autoria dos autores e análises técnicas de entidades e comitês profissionais da área de análises clínicas e medicina laboratorial.

DISCUSSÃO DE RESULTADOS

O Vírus

O SARS-CoV-2 é uma coleção de moléculas com o genoma RNA que codifica cerca de 25 proteínas virais necessárias para infectar humanos e se replicar. Entre elas, a glicoproteína *spike* (S), a qual reconhece uma enzima humana no estágio

inicial da infecção, e duas proteases, que clivam proteínas virais e humanas: a RNA-polimerase, que sintetiza o RNA viral e a endorribonuclease.^{16,17}

A cápsula viral, em formato esférico com aproximadamente 100-120 nM, apresenta externamente uma bicamada lipídica que é sensível aos ácidos graxos (sabão, por exemplo). No interior está alojada a fita única com o genoma codificado por um RNA.¹⁶⁻¹⁷

Entre o conjunto de proteínas estruturais do SARS-CoV-2, as seguintes proteínas adquirem grande importância para a formação da arquitetura viral:

- Glicoproteína *spike* de superfície (S);
- Proteína de membrana (M);
- Glicoproteína de envelope (E);
- Proteína de nucleocapsídeo (N).

A proteína mais abundante é a M, já a proteína E é uma pequena proteína de membrana fundamental para formação e replicação viral. A denominada proteína S (do inglês *spike* – espícula em português), parece apresentar um papel preponderante para a “invasão” celular. Esta proteína apresenta diferentes domínios de ligação a receptores, em especial domínios de fusão e domínios transmembranas que permitem a ligação aos receptores da Enzima Conversora da Angiotensina 2, provavelmente a principal via de entrada no hospedeiro humano.¹⁶⁻¹⁷

O papel da proteína S na infectividade sugere um importante alvo para o desenvolvimento para testes diagnósticos baseados em antígenos, sendo que o conhecimento da estrutura viral é de extrema importância para a compreensão de como cada método laboratorial poderá se apresentar em termos de acurácia, sensibilidade e especificidade diagnóstica.¹⁷

As diferentes proteínas virais empregadas em ensaios diagnósticos, tanto nos métodos moleculares e sorológicos, poderão gerar resultados discrepantes quando comparados com métodos semelhantes, porém de fabricantes diferentes.¹⁸⁻¹⁹

MÉTODOS DIRETOS DE DIAGNÓSTICO DO SARS-COV-2 Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

Este teste é considerado o padrão ouro para o diagnóstico etiológico da COVID-19, em sua forma modificada denominada RT-PCR, o que significa Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real.^{4,6,11-12,18,20} Esse método já é muito utilizado no diagnóstico e acompanhamento de outras infecções virais como as provocadas pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), arbovírus e hepatites.

Como todo teste diagnóstico está sujeito a interferências nas diferentes fases da análise laboratorial, denominadas pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas, gerando tanto resultados falso-negativos, quanto falso-positivos.^{13,15,19-20} Embora hoje seja uma metodologia já massificada em diversos laboratórios clínicos pelo mundo, requer conhecimento especializado, equipamentos de valor relativamente alto, principalmente para países pouco desenvolvidos e estrutura laboratorial compatível (preferencialmente com uma área segregada, nível de biossegurança moderado a alto etc.).

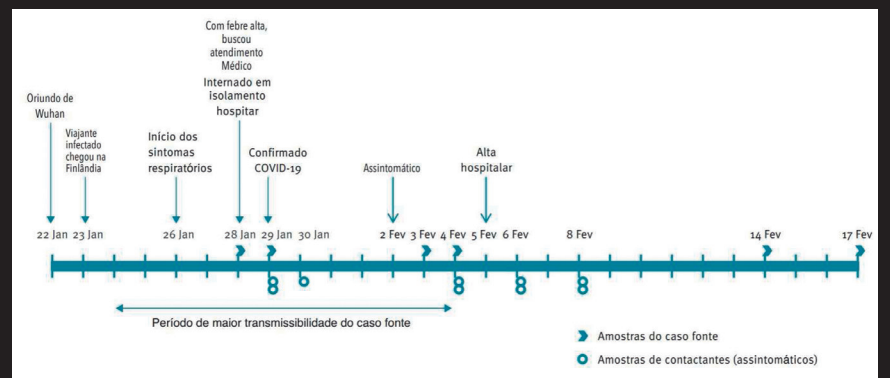
Estima-se que 40 a 70% dos erros laboratoriais ocorram na fase pré-analítica e no diagnóstico viral. Isso se repete com elevados índices de erros decorrentes de amostras identificadas incorretamente, coletas, transportes e armazenamentos inadequados; presença de substâncias interferentes etc.¹³⁻¹⁵

Já na fase analítica, embora menos sujeita a erros, a utilização de metodologias não validadas, bem como o uso de *primers* e *probes* incompatíveis poderão implicar resultados imprecisos.

O período adequado para coleta da amostra é fundamental

A importância e a rapidez desse método no diagnóstico da COVID-19 podem ser exemplificadas no comunicado elaborado pelas autoridades finlandesas no diagnóstico do primeiro caso naquele país.¹⁸ A sequência de eventos pode ser observada na figura 1.

Figura 1 - A importância dos métodos moleculares na rapidez do diagnóstico de COVID-19



Fonte: Traduzido de Haveri A., et al. (2020)¹⁸

para se evitar possíveis erros. As evidências sugerem que o período de incubação para o SARS-CoV-2 seja próximo de 6 dias (faixa de 2 a 11 dias), sendo o valor mediano entre o início dos sintomas e a admissão hospitalar próximo a 7 dias (faixa de 4 a 8 dias) com um período de duração de sintomas de 13 dias (5 a 24 dias).¹⁹

Portanto a coleta realizada no período de incubação ou sintomático poderá resultar em detecção viral, com maior chance de positividade a partir do momento que os sintomas se estabelecem.¹⁹

Fatores inerentes aos testes como a sensibilidade analítica do método (limiar de detecção), local de coleta do espécime clínico (a nasofaringe parece apresentar uma carga viral maior em relação à orofaringe) e os *primers/probes* utilizados também resultarão em uma maior ou menor sensibilidade diagnóstica.^{19, 21}

Em um estudo de coorte²¹ foi relacionada a localização de amostras (trato respiratório superior, inferior, fezes e urina) com a positividade do RT-PCR para SARS-CoV-2 em pacientes com diferentes apresentações de gravidade do quadro clínico. A apresentação clínica foi dividida em: leve, moderada, grave e crítica. As amostras foram coletadas sequencialmente no decorrer da progressão da doença.

O pico da carga viral nos casos graves/críticos ocorre frequentemente na segunda semana. Quanto mais tempo leva-se para atingir o pico, maior a carga viral quantificada no trato respiratório inferior. Em dois casos críticos houve a conversão da carga viral, em vias superiores, para negativa, enquanto nas vias inferiores manteve-se positiva.²¹

Não foi identificado vírus em nenhuma das 43 amostras urinárias coletadas durante o período de estudo ou em imagens de microscopia eletrônica de túbulos renais.

Muitos dos pacientes permaneceram com RT-PCR positivo, por mais de 14 dias. A única localização extrapulmonar foi o intestino.²¹

Sugere-se que, em casos graves, o teste RT-PCR coletado no trato respiratório inferior é mais elevado, fidedigno e indicador precoce da infecção, tendo grande importância.²¹

RT-PCR (in-House) Primer Gene E

Recentemente, a equipe de especialistas do Hospital Albert Einstein no Brasil adaptou uma metodologia baseada nas análises genéticas para quantificação viral.²²⁻²³ Segundo os pesquisadores, a partir da metodologia de Sequenciamento de Nova Geração poderão ser processadas simultaneamente até 1.536 amostras, 16 vezes maior do que o método RT-PCR.

Na figura 2, observam-se as sucessivas etapas de extração de material genético, amplificação do material genético, preparo de biblioteca de sequenciamento, utilizando *primers* universais, sequenciamento do DNA e análise de dados por meio de um *software* resultarão na análise das 1.536 amostras em até 72 horas. O método apresenta uma acurácia diagnóstica de 95,5% e uma especificidade de 100%.²⁴

MÉTODOS INDIRETOS DE DIAGNÓSTICO DO SARS-COV-2

Deteção de anticorpos por métodos sorológicos

A infecção COVID-19 também pode ser detectada indiretamente pela presença de anticorpos dirigidos contra o SARS-CoV-2. Diferentes classes de anticorpos (imunoglobulinas) estão envolvidas na resposta imunológica, destacando-se as de classe IgM, IgA e IgG. O diagnóstico sorológico é importante na elucidação de quadros infecciosos de natureza leve a moderada e cujos sintomas iniciaram-se há, aproximadamente, 2 semanas. A sorologia também é importante para entender as características epidemiológicas da doença, através dos inquéritos soropidemiológicos, identificando indivíduos transmissores assintomáticos, contactantes e indivíduos potencialmente protegidos da infecção.²⁵⁻³¹

Os métodos diagnósticos sorológicos quantitativos serão importantes, ainda, na avaliação da resposta imunológica individual frente às vacinas, permitindo inferir a necessidade de utilização ou não de múltiplas doses para se atingir um efeito protetor.³¹

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS SOROLÓGICOS QUALITATIVOS Imunocromatografia (testes rápidos)

Os testes rápidos são métodos simples, custo efetivos e de fácil execução. Devido a sua rapidez no resultado podem ser utilizados massivamente para o diagnóstico em situações de pandemias, no prognóstico epidemiológico através de inquéritos soropidemiológicos e nas medidas de controle de doenças. Seus resultados são gerados em aproximadamente 15 minutos e determinam, tão somente, a presença ou ausência de anticorpos na amostra.^{3,27-28,31} Em decorrência da urgência epidemiológica, uma infinidade de testes rápidos para o diagnóstico de SARS-CoV-2 foram produzidos e seu uso autorizado por agências reguladoras de diferentes países. Esses testes têm apresentado acurácia diagnóstica variável alguns, inclusive, com péssimo desempenho.

Essas diferenças decorrem do uso de diferentes proteínas (epítopos) virais empregadas na captação dos anticorpos e de outras características metodológicas como captação total de anticorpos (captação simultânea, sem discriminação) ou captação discriminatória de anticorpos da classe IgM e IgG.^{3,27-28, 31}

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS SOROLÓGICOS QUANTITATIVOS Enzima Imunoensaio (ELISA)

O teste de ELISA é um imunoensaio qualitativo/quantitativo, de fácil execução, alta reprodutibilidade, extrema sensibilidade, facilmente adaptado à automação e de baixo custo.³²

Nesta metodologia anticorpos podem ser estimados depois da incubação

Figura 2 - Representação esquemática do método RT-PCR (in-House) Primer Gene E



Fonte: Hospital Israelita Albert Einstein (2020) Disponível em: <https://vidasaudavel.einstein.br/coronavirus/einstein-desenvolve-o-1o-teste-genetico-para-deteccao-do-novo-coronavirus/>

do soro em uma placa de poliestireno contendo antígenos adsorvidos. Após a adição de anticorpos conjugados a uma enzima e diversas lavagens com solução tampão, o complexo antígeno/anticorpo/enzima agirá sobre um substrato (cromógeno) gerando uma mudança de coloração na solução, podendo ter sua absorvância mensurada.³³

Na COVID-19 o princípio consiste na detecção de anticorpos dirigidos contra antígenos virais (usualmente anti-S, anti-E ou anti-N para SARS-CoV-2).²⁵⁻²⁹

Como toda doença infecciosa, o valor preditivo do ELISA para SARS-CoV-2, ou seja, o quão o ensaio determinará com acurácia o verdadeiro **status** infeccioso do paciente, dependerá da prevalência da infecção por SARS-CoV-2 na população e do **status** imunológico do paciente no momento da coleta (se antes ou após 14 dias do início dos sintomas).³²

Em geral, uma alta prevalência da infecção na população, resultará em um alto valor preditivo positivo do ensaio, em compensação em áreas de baixa prevalência um resultado positivo deverá ser interpretado com cautela.³²

Embora os resultados do ELISA sejam geralmente interpretados qualitativamente como reagente ou não reagente, o nível quantitativo de um ELISA reagente influencia o valor preditivo do resultado: quanto maior o valor de um resultado reativo, maior será seu valor preditivo positivo. De forma geral, os testes de ELISA com resultados falso-positivos apresentam um baixo nível de reatividade.³²

Ressalta-se que os testes de ELISA utilizados atualmente produzem poucos resultados falso-positivos em

decorrência do aumento de sua especificidade. Este fato resulta das novas técnicas de obtenção de antígenos virais por proteínas recombinantes e/ou por peptídeos sintéticos.³²

Na Alemanha esse tipo de teste foi utilizado massivamente e, além da usual pesquisa de anticorpos anti-SARS-CoV-2 das classes IgM e IgG, foi utilizada a pesquisa de anticorpos de fase aguda da classe IgA com grande acurácia diagnóstica.²⁹ Esses resultados foram confirmados pelo Programa de Avaliação de Kits de Diagnóstico para SARS-CoV-2, onde a detecção de anticorpos IgA utilizando um painel de amostras positivas em diferentes fases da COVID-19 apresentou uma acurácia de 90,2% (quando realizada em pacientes com >10 dias de sintomas) e 78% em todos os dias (sem discriminar o número de dias após início dos sintomas).²⁴

A associação entre testes diagnósticos como PCR (no início da doença) e ELISA (após 14 dias do início dos sintomas) pode aumentar a acurácia diagnóstica para próxima de 98,6%, em contrapartida de 51,9% com o PCR como único teste.¹⁰

Acredita-se que a maioria dos anticorpos é produzida contra a proteína mais abundante do SARS-CoV-2, as nucleoproteínas, e por conseguinte a detecção desses anticorpos aumentaria a sensibilidade diagnóstica. Entretanto, o domínio de ligação ao receptor da proteína S é responsável pelo acoplamento viral. Esses anticorpos-S poderão ser mais específicos, pois podem ser neutralizantes.^{10,16} **Kits** diagnósticos que associem a detecção desses dois anticorpos poderão ter desempenho otimizado no diagnóstico, prognóstico e na eventual imunização vacinal.

Detecção de anticorpos por métodos quimioluminescentes

Esses métodos usam o mesmo princípio do método ELISA - formação de imunocomplexos -, porém utilizando uma substância marcadora denominada fluoróforo em vez da substituição da enzima.²⁶

A quimioluminescência é a produção de radiação luminosa eletromagnética (inclusive ultravioleta ou infravermelha) por uma reação química. O processo químico da quimioluminescência envolve a absorção, pelos reagentes, de energia suficiente para a geração de um complexo ativado, o qual se transforma em um produto eletronicamente excitado. A intensidade da emissão depende da velocidade de reação, da eficiência na geração de moléculas em um estado excitado e do fluoróforo, que pode ser considerado como a substância que produz a emissão. Esse método derivado da química analítica foi adaptado na rotina dos laboratórios clínicos, para sistemas automatizados de diversos fabricantes, sendo amplamente empregado no diagnóstico sorológico de doenças infectocontagiosas, imunológicas, mensuração de hormônios e drogas.³⁴ No diagnóstico da COVID-19 esse método também tem sido empregado para avaliar a presença ou ausência de anticorpos da classe IgM e IgG.²⁵⁻²⁶

Alguns métodos têm apresentado um desempenho limitado na elucidação diagnóstica se aplicados num período abaixo de 14 dias do início dos sintomas da COVID-19, o que resulta em uma acurácia diagnóstica próxima a 64%, no caso da imunoglobulina da classe IgM.²⁴⁻²⁶

DISCUSSÃO

A despeito da rapidez com que surgiram os testes para o diagnóstico da COVID-19 surgiram, também, incertezas sobre a acurácia desses testes. A validação dos *kits* em diversos países de maneira acelerada, a qualidade de obtenção e os tipos de proteínas virais utilizadas, a diversificação no uso de *primers* e *probes* resultaram em diferenças significativas quanto à sensibilidade e especificidade, assim como o limiar de detecção dos métodos.²⁴⁻²⁹

Embora a detecção viral por RT-PCR seja o padrão ouro para diagnóstico da COVID-19, não se sabe ao certo sua validade como critério prognóstico da gravidade da doença.^{6-12,18,20-21} De uma forma geral há inconsistência se uma carga viral elevada poderá ser indicativa de um prognóstico desfavorável da doença.²¹ A princípio, parece que o aumento da carga viral não seria um fator preponderante para o agravamento do quadro clínico, sendo a resposta imunológica frente ao SARS-CoV-2, a principal razão da piora clínica através do que se denominou “tempestade de citocinas”. A alteração de mediadores pró-inflamatórios como: proteína C reativa, procalcitonina, velocidade de hemossedimentação, dímero D e ferritina em pacientes com COVID-19, corroboram essa teoria.^{11,19}

A interpretação molecular dos testes RT-PCR apresentam classificações distintas entre países. Nos Estados Unidos se duas proteínas nucleocapsídeos N1 e N2 testam positivo, o caso é considerado positivo laboratorialmente, já na China em testes com três alvos (N, S e E, por exemplo), um resultado positivo para dois ou mais alvos é considerado como padrão de positividade. De uma forma geral a

carga viral não está indicada como parâmetro de severidade da doença e para monitorar resposta terapêutica da COVID-19.⁸

No que tange aos métodos indiretos, embora diversos testes sorológicos já estejam disponíveis, algumas questões permanecem incertas, como: a dinâmica da resposta imunológica e o papel dos anticorpos na imunidade protetiva. Acredita-se que altos títulos de anticorpos IgG detectados por ELISA possam estar correlacionados com a formação de anticorpos neutralizantes.³⁵ Outrossim, uma resposta efetiva, via IgA, poderá diferenciar um indivíduo que será assintomático ou não.³⁰

Uma vez que os anticorpos IgM são notoriamente não específicos, e uma resposta IgG requer semanas, a detecção sorológica terá um papel importante nos diagnósticos confirmatórios ou tardios, na determinação da imunidade dos profissionais de saúde e avaliação do progresso da epidemia.

Já os testes rápidos para detecção de anticorpos têm sido amplamente desenvolvidos e comercializados, porém sua qualidade é variável. Muitos fabricantes não revelam a natureza dos antígenos utilizados, levando a uma grande variação de sensibilidade e especificidade. A interpretação de seus resultados deve ser vista com cautela, visto o percentual elevado de resultados falso-negativos.²⁴

Em estudo recente realizado no Brasil, a sensibilidade de um teste imunocromatográfico utilizado em grande escala no país foi de 55% em amostras capilares, por sua vez em amostras de soro o desempenho foi semelhante ao método de ELISA para detecção de IgG, chegando a 96% de concordância. Diante desse resultado sugere-se que a realização

de tal teste somente seja feita em amostras de soro ou plasma e não provenientes de coletas capilares.²⁸

Um estudo de soroprevalência conduzido em Wuhan, na China, menos de 4% da população estudada apresentou um resultado sorológico positivo, o que indica uma grande probabilidade de novos surtos epidêmicos da doença, o que pode demandar ainda mais dos sistemas de saúde, em especial dos laboratórios clínicos.³⁶

CONCLUSÃO

Esta revisão versou sobre as principais metodologias utilizadas no diagnóstico molecular e sorológico na pandemia COVID-19, buscando compreender as vantagens e limitações dos diferentes métodos de diagnóstico laboratorial para a pesquisa direta ou indireta para SARS-CoV-2, a partir da análise da literatura científica e da experiência de seus autores. Embora as evidências não se encerrem neste breve relato, os artigos consultados permitem-nos concluir, até o presente momento, que a associação sequencial entre os métodos de detecção laboratorial moleculares (RT-PCR) e sorológicos (ELISA e quimioluminescência) é o que há de mais efetivo na elucidação diagnóstica da COVID-19.

REFERÊNCIAS

1. Rodriguez-Morales AJ, Gallego V, Escalera-Antezana JP, Méndez CA, Zambrano LI, Franco-Paredes C, Suárez JA, Rodriguez-Enciso HD, Balbin-Ramon GJ, Savio-Larriera E, Risquez A, Cimerman S. COVID-19 in Latin America: The implications of the first confirmed case in Brazil. *Travel Med Infect Dis* [Internet]. 2020 May-Jun [acesso em 19 set 2020];35:101613. Disponível em: <https://>

- linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1477893920300806
2. Ward JW, del Rio C. The COVID-19 Pandemic: an epidemiologic, public health, and clinical brief. *Clin Liver Dis* [Internet]. 2020 [acesso em 20 jun 2020];15(5):170–4. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cld.973>
 3. Abbasi J. The promise and peril of antibody testing for COVID-19. *JAMA* [Internet]. 2020 May [acesso em 06 set 2020];323(19):1881. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2764954>
 4. Lippi G, Plebani M. The critical role of laboratory medicine during coronavirus disease 2019 (COVID-19) and other viral outbreaks. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2020 Jun 25 [acesso em 06 set 2020];58(7):1063–9. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/cclm/58/7/article-p1063.xml>
 5. Abd El-Aziz TM, Stockand JD. Recent progress and challenges in drug development against COVID-19 coronavirus (SARS-CoV-2) - an update on the status. *Infect Genet Evol* [Internet]. 2020 Sep [acesso em 19 set 2020];83:104327. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1567134820301581>
 6. Plebani M, Lippi G. Molecular diagnostics at the times of SARS-CoV-2 outbreak. *Diagnosis* [Internet]. 2020 May 26 [acesso em 06 set 2020];7(2):149–50. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/dx/7/2/article-p149.xml>
 7. Hong KH, Lee SW, Kim TS, Huh HJ, Lee J, Kim SY, et al. Guidelines for laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med*. 2020;40(5):351–60.
 8. Tang Y-W, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW, McAdam AJ, editor. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2020 Apr 3 [acesso em 06 set 2020];58(6):1–22. Disponível em: <http://jcm.asm.org/lookup/doi/10.1128/JCM.00512-20>
 9. Fang FC, Naccache SN, Greninger AL. The laboratory diagnosis of COVID-19: frequently asked questions. *Clin Infect Dis* [Internet]. 2020 Jun 8 [acesso em 06 set 2020];26(6):979–93. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924977X16300050%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27139079>
 10. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. *JAMA* [Internet]. 2020 Jun 9 [acesso em 06 set 2020]; 323(22):2249. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837>
 11. Galli C, Plebani M. Clinical laboratory and SARS-CoV-2 infection: where do we stand? *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2020 Jun 25 [acesso em 06 set 2020];58(7):1139–41. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/cclm/58/7/article-p1139.xml>
 12. Hadaya J, Schumm M, Livingston EH. Testing individuals for Coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA* [Internet]. 2020 May 19 [acesso em 06 set 2020];323(19):1981. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2764238>
 13. Codagnone FT, Alencar SMF, Shcolnik W, Chaves SRDS, Silva LA, Henriques VHO, et al. The use of indicators in the pre-analytical phase as a laboratory management tool. *J Bras Patol e Med Lab* [Internet]. 2014 [acesso em 06 set 2020];50(2):100–4. Disponível em: <http://www.gnresearch.org/doi/10.5935/1676-2444.20140002>
 14. Codagnone FT, Guedes S de S. Buscando a eficiência laboratorial por meio de indicadores de qualidade : ênfase na fase pré-analítica. *Rev Acreditação*. 2014;8(2014):27–41.
 15. Codagnone FT, Alencar SMF, Silva LA, Chaves SRDS, Melo FSF, Henriques VHO. A Avaliação de indicadores de qualidade da fase pré-analítica no serviço de análises clínicas do Hospital Naval Marcílio Dias. *Arq Bras Med Nav*. 2013;73(1):27–32.
 16. Torres R, Rinder HM. Double-Edged spike. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2020 May 5 [acesso em 06 set 2020];153(6):709–11. Disponível em: <https://academic.oup.com/ajcp/article/153/6/709/5823978>
 17. Pillay TS. Gene of the month: the 2019-nCoV/SARS-CoV-2 novel coronavirus spike protein. *J Clin Pathol* [Internet]. 2020 Jul 6 [acesso em 19 set 2020];73(7):366–9. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32376714>
 18. Haveri A, Smura T, Kuivanen S, Österlund P, Hepojoki J, Ikonen N, et al. Serological and molecular findings during SARS-CoV-2 infection: the first case study in Finland, January to February 2020. *Eurosurveillance* [Internet]. 2020 Mar 19 [acesso em 06 set 2020];25(11):1–6. Disponível em: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.11.2000266>
 19. Lippi G, Simundic A-M, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2020 Jun 25 [acesso em 06 set 2020];58(7):1070–6. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/cclm/58/7/article-p1070.xml>
 20. Katz AP, Civantos FJ, Sargi Z, Leibowitz JM, Nicolli EA, Weed D, et al. False positive reverse transcriptase polymerase chain reaction screening for SARS-CoV-2 in the setting of urgent head and neck surgery and otolaryngologic emergencies during the pandemic: clinical implications. *Head Neck* [Internet]. 2020 Jul 12 [acesso em 06 set 2020];42(7):1621–8. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/hed.26317>

ARQUIVOS BRASILEIROS DE MEDICINA NAVAL
O laboratório clínico na pandemia COVID-19

21. Lui G, Ling L, Lai CK, Tso EY, Fung KS, Chan V, et al. Viral dynamics of SARS-CoV-2 across a spectrum of disease severity in COVID-19. *J Infect* [Internet]. 2020 Aug [acesso em 06 set 2020];81(2):318–56. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0163445320302255>
22. Kasteren PB, Veer B, Brink S, Wijsman L, de Jonge J, Brandt A, et al. Comparison of seven commercial RT-PCR diagnostic kits for COVID-19. *J Clin Virol* [Internet]. 2020 Jul [acesso em 06 set 2020];128(April):104412. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcv.2020.104412>
23. Sekulic M, Harper H, Nezami BG, Shen DL, Sekulic SP, Koeth AT, et al. Molecular detection of SARS-CoV-2 infection in FFPE samples and histopathologic findings in fatal SARS-CoV-2 cases. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2020 May 26 [acesso em 06 set 2020];1–11. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32451533>
24. Controllab, Sociedade Brasileira de Patologia Clínica. Programa de avaliação de kits de diagnóstico para SARS-CoV-2. Relatório da primeira avaliação de ensaio de proficiência para todos os métodos de detecção do SARS-CoV-2 [Internet]. Rio de Janeiro: Controllab; 2020 [acesso em 06 set 2020]. Disponível em: <https://testecovid19.org/avaliacoes/>
25. Padoan A, Sciacovelli L, Basso D, Negrini D, Zuin S, Cosma C, et al. IgA -Ab response to spike glycoprotein of SARS-CoV-2 in patients with COVID-19: a longitudinal study. *Clin Chim Acta* [Internet]. 2020 Aug [acesso em 06 set 2020];507(January):164–6. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009898120301819>
26. Padoan A, Cosma C, Sciacovelli L, Faggian D, Plebani M. Analytical performances of a chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgM/IgG and antibody kinetics. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 2020 Jun 25 [acesso em 06 set 2020];58(7):1081–8. Disponível em: <https://www.degruyter.com/view/journals/cclm/58/7/article-p1081.xml>
27. Zhengtu L, Yongxiang Y, Xiaomei L, Nian X, Yang L, Shaoqiang L et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol* [Internet]. 2020 Sep 13 [acesso em 06 set 2020];92(9):1518–24. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jmv.25727>
28. Santos VA dos, Rafael MM, Sabino EC, Duarte AJ da S. Sensitivity of the Wondfo One Step COVID-19 test using serum samples. *Clinics* [Internet]. 2020 May 25;75:6061 [acesso em 06 set 2020]. Disponível em: <https://www.clinicsjournal.com/article/sensitivity-of-the-wondfo-one-step-covid-19-test-using-serum-samples/>
29. Jääskeläinen AJ, Kekäläinen E, Kallio-Kokko H, Mannonen L, Kortela E, Vapalahti O, et al. Evaluation of commercial and automated SARS-CoV-2 IgG and IgA ELISAs using coronavirus disease (COVID-19) patient samples. *Eurosurveillance* [Internet]. 2020 May 7;25(18):1–8 [acesso em 06 set 2020]. Disponível em: <https://www.eurosurveillance.org/content/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.18.2000603>
30. Yin XC, Röttschke O, Tan E-K. The role of IgA in COVID-19. *Brain Behav Immun* [Internet]. 2020 Jul [acesso em 06 set 2020];87(May):182–3. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32454136>
31. Krammer F, Simon V. Serology assays to manage COVID-19. *Science* [Internet]. 2020 [acesso em 06 set 2020];368(6495):1060–2. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32414781>
32. Codagnone FT, Casarotto P. Gestante com Western Blot – HIV indeterminado. Tratar, ou não tratar. Uma visão laboratorial. *Infarma - Ciências Farm.* 2011;23(1/2):9–12.
33. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). *Bull World Health Organ* [Internet]. 1976 [acesso em 06 set 2020];54(2):129–39. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/260884>
34. Correa E, Vitorino A. A quimiluminescência como ferramenta analítica: do mecanismo a aplicações da reação do luminol em métodos cinéticos de análise. *Quim Nov.* 2002;25(6):1003–11.
35. Melgaço JG, Azamor T, Ano Bom APD. Protective immunity after COVID-19 has been questioned: what can we do without SARS-CoV-2-IgG detection? *Cell Immunol* [Internet]. 2020 Jul [acesso em 06 set 2020];353(April):104114. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2020.104114>
36. Xin X, Jian S, Sheng N, Huiyuan L, Yaozhong K, Min L, et al. Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China. *Nat Med* [Internet]. 2020 Aug 5 [acesso em 06 set 2020];26(8):1193–5. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32504052>



A ÚLTIMA FRONTEIRA

Existe uma Amazônia no mar para ser protegida e preservada.

Acesse o nosso site e saiba mais
www.marinha.mil.br



SIGA A MARINHA NAS REDES SOCIAIS:



/marinhaoficial



/mboficial



@marinhaoficial



/marmilbr



/marinhaoficial



MARINHA DO BRASIL

Protegendo nossas riquezas, cuidando da nossa gente.