

## Testes diagnósticos na COVID-19

*Viviane Boaventura<sup>1</sup>*

*Thiago Cerqueira-Silva<sup>2</sup>*

*Luciane Amorim Santos<sup>3</sup>*

*Marília Santini Oliveira<sup>4</sup>*

*Ricardo Khouri<sup>5</sup>*

*Aldina Barral<sup>6</sup>*

*Manoel Barral-Netto<sup>7</sup>*

- 1 Médica, com mestrado e doutorado em patologia pela Universidade Federal da Bahia (UFBA). É professora adjunta Faculdade de Medicina da Bahia da UFBA, e pesquisadora da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Investiga aspectos clínicos e imunológico de doenças infecciosas.
- 2 Aluno do programa MD/PhD da Universidade Federal da Bahia (UFBA) no Instituto Gonçalo Moniz da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia e do grupo de pesquisas Neurocardio da UFBA.
- 3 Professora da Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública (EMMSP), da Universidade Católica do Salvador (UCSal) e do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal da Bahia (UFBA). Atua em genômica de doenças infecciosas.
- 4 Médica infectologista do Instituto Nacional de Infectologia (INI) e da Coordenação de Vigilância em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Possui mestrado e doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas pela Fiocruz. Atua nas áreas do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e vigilância em saúde.
- 5 Pesquisador em Saúde Pública da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), professor adjunto da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e professor permanente das Pós-Graduações em Patologia Humana e em Ciências da Saúde. Atua em imunopatogênese de doenças infecciosas virais.
- 6 Médica e doutora em patologia, professora titular aposentada da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e pesquisadora titular da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia, chefe do Laboratório de Enf. Infecciosas de Transmissão Vetorial, atua na área de imunologia das doenças infecto-parasitárias.
- 7 Médico e doutor em Patologia, professor titular aposentado da Faculdade de Medicina da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e pesquisador titular da Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) da Bahia, onde é chefe do Laboratório de Inflamação e Biomarcadores. Atua na área de imunologia das doenças infecto-parasitárias.

---

BOAVENTURA, V.; CERQUEIRA-SILVA, T.; SANTOS, L. A.; OLIVEIRA, M. S.; KHOURI, R.; BARRAL, A.; BARRAL-NETTO, M. Testes diagnósticos na Covid-19. In: BARRAL-NETTO, M.; BARRETO, M. L.; PINTO JUNIOR, E. P.; ARAGÃO, E. (org.). *Construção de conhecimento no curso da pandemia de COVID-19: aspectos biomédicos, clínico-assistenciais, epidemiológicos e sociais*. Salvador: Edufba, 2020. v. 1. DOI: <https://doi.org/10.9771/9786556300443.008>.

## Introdução

Os testes diagnósticos laboratoriais receberam muita atenção na pandemia pelo SARS-CoV-2 em parte pelo importante papel que indivíduos pré-sintomáticos, e mesmo assintomáticos, parecem ter na transmissão do vírus. Um entendimento do papel e limitações dos métodos utilizados é de fundamental importância para a compreensão das análises do curso da pandemia. Em abril de 2020, já estava claro que o controle efetivo da pandemia dependia da implantação de medidas de distanciamento físico (MAIER; BROCKMAN, 2020) e da realização intensiva de testes (HUMANITY..., 2020) devido às características da enfermidade. Houve um consenso de que testagem de forma extensiva e medidas de isolamento salvam vidas na pandemia da COVID-19.

Há duas modalidades de testes amplamente utilizadas:

1. para identificar a presença do RNA viral;
2. para detecção dos anticorpos formados pelo ser humano contra o vírus.

O tipo de teste mais utilizado para a identificação do material genético do SARS-CoV-2 é a Reação Quantitativa em Cadeia de Polimerase por Transcriptase

Reversa (RT-qPCR). O teste positivo indica que a pessoa testada está com material viral presente no seu organismo.

Para a detecção de anticorpos séricos humanos contra o vírus SARS-CoV-2, são utilizados em larga escala os testes imunocromatográficos em cartucho, comumente designando por teste rápido, porém outras técnicas como o ensaio imunoenzimático (ELISA) e a imunoquimioluminescência também são utilizadas.

As duas modalidades de teste serão descritas e analisados seus usos e limitações.

## Testes para detecção de material viral

Devido à maior sensibilidade e especificidade e à maior capacidade de testes simultâneos, o RT-qPCR tem sido a primeira escolha para o diagnóstico molecular do SARS-CoV-2. Resumidamente, o RT-qPCR consiste na transcrição da fita de RNA viral em DNA complementar (cDNA) realizada pela enzima transcriptase reversa, seguida da amplificação dessa molécula de cDNA em escala geométrica através de reação em cadeia de uma DNA polimerase. A região a ser amplificada necessita ser guiada por oligonucleotídeos iniciadores – *primers* – que se ligam de maneira altamente específica ao material genético viral. A detecção do produto molecular gerado acontece através de equipamentos sofisticados que são capazes de identificar oligonucleotídeos associados a fluoróforos, sondas – *probes* –, ligados de maneira altamente específica no material genético viral amplificado. O desenho e síntese desses iniciadores e sondas constituem o princípio desses testes moleculares, determinando a especificidade e sensibilidade de detecção viral de cada protocolo. Vários protocolos de RT-qPCR, compostos por iniciadores e sondas únicos, foram desenvolvidos desde o primeiro sequenciamento viral das amostras coletadas de pacientes com COVID-19.

Além das características específicas dos protocolos – *primers*, sondas e enzimas –, diversos outros fatores também podem influenciar diretamente a sensibilidade e especificidade de um teste molecular durante a rotina. Entre esses, estão os fatores associados à fase pré-analítica, como a escolha da amostra biológica a ser coletada, a execução técnica da coleta, o tempo de doença que será realizada a coleta e o acondicionamento adequado da amostra.

O teste de RT-qPCR permite uma avaliação estimada da carga viral baseada no número de ciclos necessários para o equipamento detectar o material genético viral amplificado. Por exemplo, a presença de pouco material viral – pequena carga viral ou pouca quantidade de material coletado –, requer a realização de uma quantidade maior de ciclos de amplificação para que o material genético viral se torne detectável para o equipamento. Enquanto que uma alta carga viral é detectada pelo equipamento em poucos ciclos. Apesar da informação da quantidade viral ser importante para discussões sobre transmissibilidade e/ou evolução da doença, durante a rotina clínica/laboratorial, os laudos são expressos apenas como detectado.

Além da qualidade dos *kits*, diversos outros fatores também podem influenciar diretamente a sensibilidade e especificidade de um teste molecular durante a rotina. Entre esses, estão os fatores associados à fase pré-analítica, como a escolha da amostra biológica a ser coletada, o tempo de doença que será realizada a coleta, a execução técnica da coleta e o acondicionamento adequado da amostra.

Sobre a escolha da amostra biológicas de pacientes com COVID-19 a ser coletada, o SARS-CoV-2 já foi detectado em sangue total (1%), fezes (30%), *swabs* de orofaringe (32%), *swabs* de nasofaringe (63%) e lavado broncoalveolar (93%). (WANG et al., 2020) Foi demonstrado também altas frequências de detecção viral em amostras de salivas e *swabs* linguais. (TO et al., 2020a, 2020b; WYLLIE et al., 2020)

Preferencialmente, o procedimento de coleta de amostras do trato respiratório utilizando *swabs* exige um profissional capacitado, oferecendo um alto risco de exposição do operador a aerossóis contendo partículas virais. Recentemente, foi demonstrado que a coleta através de *swabs* sendo realizada pelo próprio indivíduo a ser testado, também apresentou uma alta sensibilidade e especificidade na detecção do vírus, com uma forte correlação entre os valores de detecção viral das amostras oriundas da auto-coleta e das amostras coletadas por um profissional experiente. Outra opção a ser considerada é a detecção viral em amostras de saliva que pode ser facilmente autocoletada de maneira não invasiva. A disseminação dessas estratégias de autocoleta permitiria a maior adesão dos indivíduos testados, dispensando a necessidade de uma estrutura complexa montada para coleta. Entretanto, a autocoleta de amostra gera muita insegurança quanto a qualidade, apesar das publicações mostrarem o contrário (TO et al., 2020a; WANG et al., 2020; WYLLIE et al., 2020), ainda tem sido pouco empregada nos quase sete meses iniciais da pandemia.

Em relação à coleta de material para detecção viral em pacientes com COVID-19, o período com menor proporção de resultados falso-negativos e maior carga viral acontece entre o momento logo antes até o terceiro dia após o início dos sintomas. (KUCIRKA et al., 2020; TO et al., 2020a) Porém, há relato de persistência de testagem positiva para o vírus por tempo mais prolongado, com uma média de 14 dias para pacientes com sintomas leves, 19 dias para indivíduos assintomáticos (LONG et al., 2020) e mais de 20 dias para pacientes hospitalizados. (WÖLFEL et al., 2020) Contudo, é importante destacar que dez dias após o início dos sintomas, mesmo que o RT-qPCR seja positivo, o isolamento viral *in vitro* resultou negativo. (WÖLFEL et al., 2020) Assim, o resultado positivo no teste molecular tardio provavelmente não indica capacidade de transmissão viral pelo paciente.

O número limitado de locais habilitados para realização dos testes moleculares, muitas vezes obriga o deslocamento das amostras coletadas por longas distâncias. O tempo elevado de deslocamento, associado a altas temperaturas, pode degradar o material genético viral, gerando resultados falso-negativos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) indica a possibilidade de manter as amostras a 4 °C por até 72h ou congelar a -80 °C se necessitar mais tempo para testar.

Como uma forma de identificar se o material coletado foi suficiente e adequado para realizar a RT-qPCR, os testes são realizados, na grande maioria, utilizando iniciadores e sondas para duas regiões do genoma viral e uma região do genoma do hospedeiro (humano). Essa região do hospedeiro humano é utilizada como controle de qualidade do material coletado, indicando que a coleta foi feita de forma adequada, com material suficiente coletado e que não houve degradação da amostra durante o transporte. Já o uso de duas regiões virais aumenta a especificidade dos kits, garantindo uma maior segurança no diagnóstico. Assim, um resultado é considerado detectado para SARS-CoV-2 quando é verificada amplificação para os dois genes virais do SARS-CoV-2 e o gene endógeno humano. Um resultado é considerado não detectado quando é verificada a amplificação apenas para o gene endógeno humano. Caso apenas um dos genes virais e o gene endógeno humano sejam amplificados, o resultado é considerado inconclusivo. A não amplificação do controle endógeno indica que o teste é inválido, indicando a necessidade de uma nova coleta.

Embora o RT-qPCR para a detecção do SARS-CoV-2 possa ser considerado um método sensível e específico, nenhum teste laboratorial é perfeito e seu resultado deve ser interpretado em conjunto com os dados clínicos do paciente, com outras análises laboratoriais e/ou exames de imagens radiológicas na presença de um profissional de saúde responsável pelo acompanhamento do

paciente, além dos dados epidemiológicos, para aumentar a sensibilidade clínica do exame.

Vários outros testes como amplificação isotérmica após Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP), os de Next Generation Sequencing (NGS), o PCR Espectrometria de massa em tempo de voo – *Time of Flight-Mass Spectrometry* (TOF-MS) –, microensaio PCR, PCR digital foram utilizadas em escala consideravelmente menor. (ZHANG et al., 2020) A melhor perspectiva para detecção do RNA viral de forma mais simples e mais rápida que o RT-qPCR parece ser o RT-LAMP. Essa técnica não requer equipamentos, pode ser feito no local da coleta, em cerca de 40 minutos, com possibilidade de detectar 10 cópias do genoma do SARS-CoV-2. (YAN et al., 2020; YU, C. et al., 2020)

Há também a perspectiva de desenvolvimento de testes mais rápidos e mais baratos para detecção de moléculas virais que não o RNA. A maior possibilidade é de detecção de proteínas virais em ensaios com anticorpos específicos contra a molécula a ser detectada em testes similares aos já utilizados para outras viroses. Os testes com essa tecnologia não possuem etapa de amplificação e são menos sensíveis, pelo que precisam ser analisados com cautela. Segundo a avaliação da Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) (c2019), os testes disponíveis dessa modalidade ainda não permitem seu uso adequadamente em triagem ou diagnóstico clínico. Sem um valor preditivo positivo adequado, não é recomendável, no momento, o uso dos testes de detecção de proteínas virais para avaliação de contatos dos casos identificados. (ZHANG et al., 2020)



## Testes para detecção de anticorpos séricos anti-SARS-CoV-2

Três tipos de testes sorológicos têm sido utilizados com frequência para a detecção de anticorpos desenvolvidos pelo hospedeiro contra o SARS-CoV-2: os ensaios imunoenzimáticos, os ensaios de quimiluminescência e os testes rápidos de fluxo lateral. Usualmente, os testes visam à detecção de anticorpos das classes Imunoglobulina IgM e IgG, mas há também testes para a detecção de IgA anti-SARS-CoV-2. O ensaio imunoenzimático ELISA é um teste capaz de identificar a presença do anticorpo do paciente através do reconhecimento específico de um antígeno viral imobilizado em uma superfície sólida e depois complexado com um anticorpo vinculado a uma enzima que na presença do substrato gera uma solução colorida que pode ser semiquantificada através de leitores de densidade ótica e uma curva ou valor de referência. Já os ensaios de imunoluminescência, semelhante ao ELISA, detecta a presença de anticorpos por uma reação enzimática quimiluminescente que pode ser semiquantificada através de leitores de luminescência e uma curva ou valor de referência. Os testes rápidos se baseiam na imunocromatografia de fluxo lateral, na qual o analito é capturado por anticorpos conjugados com partículas coloridas ou fluorescentes – mais comumente ouro coloidal ou microesferas de látex, sendo imobilizado na zona de detecção onde reagirá com o analito ligado ao anticorpo conjugado. O reconhecimento do analito da amostra resulta em uma resposta apropriada que será visualizada na linha de teste.

Os testes atualmente disponíveis são dirigidos para a detecção de proteínas da espícula viral – a proteína S total, alguns domínios proteicos e mesmo contra a região de ligação com o Receptor-Binding Domain (RBD) ou para Núcleo-proteínas virais (NP). A detecção de anticorpos contra o RBD, tanto da IgM quanto da



IgG, é mais precoce – cinco a dez dias após o início dos sintomas – que contra a NP. (LIU, W. et al., 2020)

O teste rápido apresenta vantagem em termos de rapidez e facilidade de execução, contudo os testes ELISA tendem a apresentar maior sensibilidade e especificidade que os testes rápidos, mas são de execução mais laboriosa e demorada. Há um constante aperfeiçoamento dos testes sorológicos disponíveis para detecção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 pelo que não reveremos aqui os dados dos testes anti-SARS-CoV-2.

A sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos sofrem menos com os fatores associados à fase pré-analítica, pois o material é mais estável do que o utilizado nos testes moleculares, concentrando os esforços na escolha correta do tempo de doença que será realizada a coleta. Diferente do material genético viral, os anticorpos resistem mais a variações no acondicionamento das amostras. Quanto à coleta, os ensaios de ELISA e quimiluminescência dependem apenas da coleta de sangue por punção venosa para separação de soro/plasma, enquanto que o teste rápido é desenhado para funcionar com pequenas quantidades de sangue total sendo necessária apenas coleta por capilar a partir de uma pequena punctura na ponta do dedo.

No sétimo dia pós-sintomas, menos da metade dos pacientes de COVID-19 apresenta soropositividade para IgM e aproximadamente 60% deles têm IgG detectável. A positividade na IgG chega a 95% no 16º dia pós-sintomas, enquanto a IgM só chega a 95% de positividade no 20º dia. O padrão de positividade rápida de IgG e de resposta mais tardia de IgM na COVID-19 (XU et al., 2020) difere do observado no diagnóstico de outras enfermidades virais, o que questiona as interpretações da elevada probabilidade de transmissibilidade do SARS-CoV-2 por indivíduos com positividade da IgM. Considerando que em torno do oitavo dia pós-sintomas a carga viral é negativa ou baixa, quando a IgM ou IgG se tornam positivas,

o risco de transmissão já não é elevado na maioria dos casos sintomáticos. Desde o quinto dia após o início dos sintomas, a frequência de cultura viral positiva é baixa. (WÖLFEL et al., 2020)

Os indivíduos assintomáticos, mas que apresentam positividade do RT-qPCR para SARS-CoV-2 demonstram uma produção de anticorpos mais fraca que a dos sintomáticos, sendo que 40% dos assintomáticos e 13% dos sintomáticos não desenvolveram anticorpos anti-SARS-CoV-2. (LONG et al., 2020) Adicionalmente, a infecção por SARS-CoV-2, confirmada por teste molecular, nem sempre apresenta resposta humoral detectável. Notadamente, os indivíduos assintomáticos apresentam uma menor produção de anticorpos do que os sintomáticos, em que 40% dos assintomáticos e 13% dos sintomáticos parecem não desenvolver anticorpos anti-SARS-CoV-2. (LONG et al., 2020)

Assim, a interpretação de um teste sorológico negativo para COVID-19 deve ser analisado com cautela, devendo ser avaliado cuidadosamente o tempo de doença, a história clínica e outros exames do paciente antes de excluir uma possível infecção por SARS-CoV-2.

## Interpretação combinada dos testes de detecção viral e de anticorpos<sup>8</sup>

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

---

<sup>8</sup> Texto adaptado de nota técnica originalmente publicada em covid19br.org (<https://covid19br.org/relatorios/consideracoes-sobre-o-uso-e-a-interpretacao-dos-testes-diagnosticos-na-covid-19/>).

entender a transmissão do vírus e o percentual de resposta antiviral desenvolvida nas populações.

Conforme já mencionado, para a avaliação de indivíduos na fase inicial da COVID-19 – até o sétimo dia a partir do início dos sintomas –, emprega-se o teste de detecção de material genético viral, o RT-qPCR, enquanto os testes que avaliam a resposta imune do paciente – elevação de IgM e/ou IgG – podem ser úteis após o sétimo dia e apresentam melhor desempenho após o 14º dia. (LIU, L. et al., 2020; OKBA et al. 2020; PAN et al., 2020)

A utilização isolada e/ou combinada dos resultados dos testes RT-qPCR (virais) e dos testes rápidos (imunológicos) deve orientar as ações em relação aos pacientes, como sintetizado no Quadro 1.

**Quadro 1** – Características e aplicação dos testes diagnósticos para COVID-19

Tipo de teste	Objetivo	O que detecta	Quando fazer	Interpretação
RT-qPCR para detecção de RNA viral	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificação de casos na sua fase inicial;</li> <li>Investigar os casos que permanecem capazes de transmitir o SARS-CoV-2 por tempo prolongado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Indica a presença de RNA do vírus no local da coleta do material</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nos primeiros 7 dias após os primeiros sintomas;</li> <li>Na identificação de indivíduos infectados (mesmo que sem sintomas) entre os contatos de casos confirmados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>O indivíduo está com infecção pelo SARS-CoV-2, sintomática ou assintomática.</li> </ul>
Testes sorológicos (rápidos ou ELISA)	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar os indivíduos já expostos ao vírus (com ou sem desenvolvimento de COVID-19).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>A presença de anticorpos séricos contra antígenos do vírus. Ele indica que a pessoa testada foi infectada (tendo ou não desenvolvido COVID-19).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Após duas semanas do início dos sintomas ou da data de realização de um RT-qPCR com resultado positivo;</li> <li>Para avaliação da infecção pregressa pelo SARS-CoV-2 mesmo em indivíduos assintomáticos, seja como contato de casos confirmados seja em inquéritos sorológicos na comunidade.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>O indivíduo teve infecção pelo SARS-CoV-2, sintomática ou assintomática;</li> <li>Verificar o valor preditivo positivo do teste.</li> </ul>

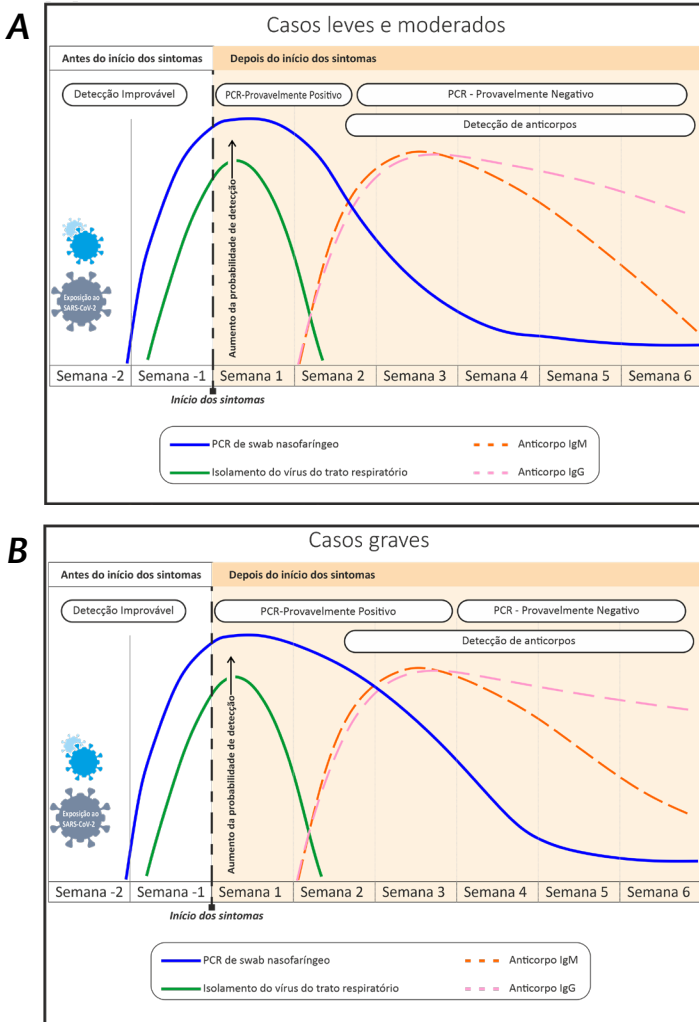
Fonte: elaborado pelos autores.

Os indivíduos não sintomáticos e com teste RT-qPCR detectável se enquadram como pré-sintomáticos ou assintomáticos. Devem ser afastados do serviço pelo período de dez dias e de três dias consecutivos sem sintomas a partir da coleta do exame e avaliados quanto ao desenvolvimento de sintomas. Caso não desenvolvam sintomas no período, não há necessidade de novo afastamento. Devem ser orientados a contatar o serviço de saúde, se desenvolverem sintomas e, nesse caso, devem ser atendidos de acordo com a gravidade do caso. Considerados o período de incubação (HE et al., 2020), a presença do vírus e o potencial de transmissão no período pré-sintomático, devem ser orientados para rastreamento e isolamento dos contatos.

O indivíduo não sintomático e com RT-qPCR não detectável não requer cuidados especiais. Provavelmente se enquadra como indivíduo testado por ser contato de caso confirmado ou suspeito, pelo que é recomendável ser orientado a realizar aferição diária da temperatura e avaliação de desenvolvimento de sintomas compatíveis com a COVID-19.

Considerando esses dados, os pacientes com sintomas compatíveis com a COVID-19 devem ser avaliados pelo RT-qPCR até sete dias após os primeiros sintomas, não sendo recomendável a realização do teste sorológico em indivíduos ainda com sintomatologia. Para a solicitação de testes sorológicos em indivíduos assintomáticos, devem ser observadas as características do teste – sensibilidade e especificidade – assim como o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo. A aplicabilidade das duas metodologias durante a cronologia da infecção pode ser vista na Figura 1.

**Figura 1** – Probabilidades de detecção do vírus ou anticorpos após a exposição ao SARS-CoV-2 (2ª Semana). Estratificado entre antes e depois do início dos sintomas



Fonte: elaborada pelos autores.<sup>9</sup>

Nota: A) Casos leves e moderados de COVID-19; e B) Casos graves de COVID-19.

<sup>9</sup> Criada com biorender.com

## Acurácia dos testes de detecção de anticorpos e valores preditivos

O estabelecimento de um diagnóstico é um processo imperfeito baseado em probabilidade, quanto mais elementos tivermos para reduzir a incerteza, maior a probabilidade da tomada de decisão correta. Em relação ao teste, devemos atentar para as suas características intrínsecas, sensibilidade e especificidade, e também para o seu valor preditivo positivo, o qual depende da frequência do evento na população testada.

As características intrínsecas do teste, sensibilidade e especificidade, são importantes para orientar a escolha de quais dos testes disponíveis se deve usar, mas, após o resultado do teste, na análise da situação do paciente, é importante considerar também o Valor Preditivo Positivo (VPP) e o Valor Preditivo Negativo (VPN) dos testes. O VPP pode ser expresso como: se o teste é reagente qual a probabilidade do indivíduo ter COVID-19, ainda que assintomática? E de maneira complementar, o VPN será: frente a um teste não reagente, qual a probabilidade do indivíduo realmente não ter os anticorpos específicos? O cálculo dos valores preditivos depende das características intrínsecas do teste, mas também da prevalência do evento na população específica. O teste imunocromatográfico de uso no local da coleta – teste rápido ou *point of care* – é o tipo de teste mais utilizado no Brasil no momento atual. Tais testes apresentam sensibilidade e especificidade inferiores aos testes sorológicos realizados pelos métodos de ELISA ou de quimioluminescência, porém não há diferenças importantes no cálculo do valor preditivo positivo. Ao usar o mesmo teste em populações aleatoriamente escolhidas em cidades com prevalência distinta, o VPP será diferente em cada uma delas. Como exemplo, compararemos o VPP obtido em três cidades hipotéticas usando

um mesmo teste com 94% de sensibilidade e 95% de especificidade (Tabela 1).

**Tabela 1** – Interpretação dos resultados de testes sorológicos de acordo com a prevalência da doença na população estudada

População testada	Prevalência (%)	VPP (%)
Amostra aleatória cidade A	3,7	<b>42</b>
Amostra aleatória cidade B	10,3	<b>68</b>
Amostra aleatória cidade C	20,2	<b>83</b>
Indivíduos 15 dias após início dos sintomas de COVID-19	80	<b>99</b>

Fonte: elaborada pelos autores.

Podemos ver que o mesmo teste aplicado na população aleatoriamente escolhida na cidade A teria um VPP de 42% – cerca de seis a cada dez testes positivos seriam falso-positivos –, enquanto na população aleatoriamente escolhida na cidade C, o VPP seria de 83 – cerca de 17 a cada 100 testes positivos seriam falso-positivos. Considerando a prevalência relativamente baixa da doença nessas cidades no momento em que foi feito o inquérito, um teste com 95% de sensibilidade e 95% de especificidade não deve ser interpretado do ponto de vista individual devido ao percentual elevado de falso-positivos. Contudo, sabemos que 80% dos indivíduos que tiveram a COVID-19 são soropositivos 15 dias após o início dos sintomas. O mesmo teste aplicado na população de indivíduos pós-COVID-19 terá um VPP de 99%, ou seja a cada 100 testes positivos só um deles é provavelmente falso-positivo.



## Cautela em relação à interpretação de proteção pela IgG

A detecção de anticorpos IgG anti-SARS-CoV-2, tanto nos testes rápidos como a presença de IgG nos testes como o ELISA, nem sempre se correlaciona com proteção contra a infecção (TO et al., 2020; WÖLFEL et al., 2020) e devemos manter uma atitude cautelosa nesse aspecto. Um estudo recente (ainda em estágio de revisão), com dados de 175 pacientes com quadros moderados de COVID-19 mostrou que 25% deles exibiu uma baixa produção de anticorpos neutralizantes e que 5% não chegaram a desenvolver esse tipo anticorpos. (FAN et al., 2020) Por outro lado, um estudo com 149 indivíduos convalescentes de COVID-19 mostrou que anticorpos específicos para o domínio de ligação com o receptor, embora em níveis baixos, tiveram elevada atividade antiviral e foram encontrados em todos os indivíduos testados. (ROBBIANI et al., 2020)

Adicionalmente, devemos considerar a possibilidade do fenômeno de agravamento da enfermidade por anticorpos – *antibody-dependent enhancement* – a qual tem sido levantada em alguns artigos, como, por exemplo, “Susceptibility of the Elderly to SARS-CoV-2 Infection: ACE-2 Overexpression, Shedding, and Antibody-dependent Enhancement (ADE)” de Peron e Nakaya (2020), e tem merecido atenção no desenvolvimento de vacinas.

## Indicações do uso dos testes em saúde pública<sup>10</sup>

Na ausência de um tratamento efetivo contra o SARS-CoV-2, tanto os testes de detecção viral quanto os testes sorológicos não trazem benefício direto para o indivíduo examinado, pois os seus resultados não alteram a decisão a ser tomada em relação ao manejo do caso. Assim, no momento, os testes diagnósticos da COVID-19 possuem valor no âmbito da saúde pública, e não no diagnóstico clínico (individual).

O resultado positivo do RT-qPCR ajuda a:

- a. Confirmar a presença do SARS-CoV-2 no paciente, orientando o rastreamento dos seus contatos para serem também testados e, se infectados, isolados contribuindo para o controle da transmissão viral;
- b. Estabelecer o diagnóstico diferencial de quadros clínicos similares causados por outros vírus, fornecendo informações mais precisas sobre a efetiva disseminação do vírus na população, o que permitirá medidas de controle mais embasadas;
- c. Indicar a ausência de moléculas virais persistentes em pacientes que se recuperaram da COVID-19, o que pode representar risco de transmissão, orientando, assim, a decisão sobre a alta dos pacientes para evitar transmissão na comunidade;

Os testes imunocromatográficos rápidos e ELISAs para IgM e IgG possibilitam:

---

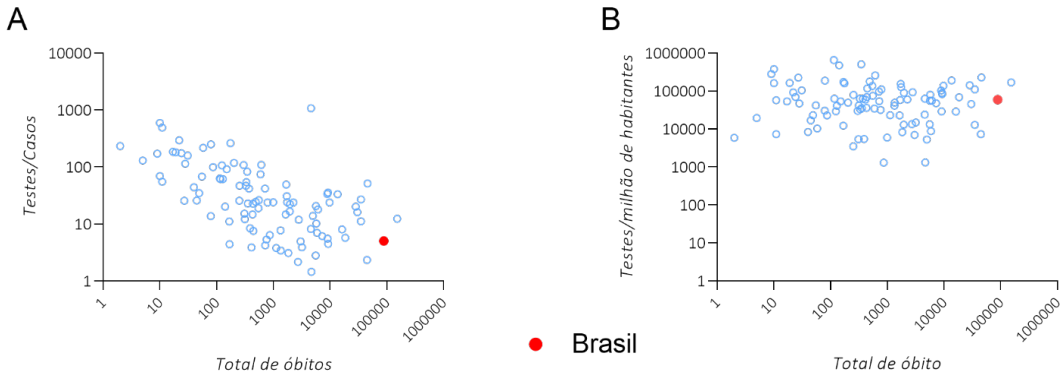
<sup>10</sup> Texto adaptado de nota técnica originalmente publicada em covid19br.org (<https://covid19br.org/relatorios/quantos-testes-o-brasil-precisa-fazer-para-controlar-a-covid-19/>).

- a. avaliar a exposição dos indivíduos ao vírus, o que permite identificar os indivíduos que se infectaram mesmo sem apresentar sintomas;
- b. determinar a taxa de ataque da doença em grupos específicos e populações e no curso da epidemia.

Muito tem se indagado sobre quantos testes precisamos fazer no Brasil para acabar com o isolamento físico e promover a reativação da economia. Em termos de saúde pública, a pergunta deve ser recolocada como quantos testes são necessários para orientar as ações apropriadas para o controle da epidemia. Tal controle permitiria estabelecer um nível de proteção razoável da população e promover a redução controlada e monitorada do isolamento social.

Um indicador que tem sido utilizado para avaliar o uso apropriado dos testes realizados é a taxa de positividade dos testes, visto que a inclusão intensiva de contatos leva a um percentual menor de testes positivos. A Figura 2, elaborada com base nos dados da Worldometers, visa explorar a relação entre número total de óbitos e o número de testes realizados por população ou no número de testes por caso confirmado. Ela mostra a relação entre o número total de óbitos e o número de testes por caso (A) e a relação de óbitos com teste/população (B), no conjunto dos 100 primeiros países com mais testes realizados, evidenciando a falta de relação entre óbito e o número de testes por milhão de habitante, mas uma clara associação entre óbito e teste/caso confirmado.

**Figura 2** – Quantificação dos testes para COVID-19 de acordo com o número de casos ou o de habitantes



Fonte: elaborada pelos autores com base em dados retirados de Worldometer (2020).

Nota: A) Relação entre Total de óbitos e Testes por milhão de habitantes; e B) Relação entre Total de óbitos e Testes por caso.

Há limitações na abordagem utilizada, como não haver incluído um maior número de países e que a taxa de óbitos depende das condições do sistema de saúde do país. Necessitam ser analisados outros aspectos como em que momento da epidemia foram realizados os testes intensivos, o que explica que países com desempenho sofrível apresentam, neste momento, razão teste/habitantes comparável a de países com melhor desempenho.

Mesmo considerando essas limitações, podemos utilizar esses dados para realizar uma estimativa inicial do número de testes necessários no Brasil hoje. Para tal cálculo, consideremos o número de 37.278 casos novos no dia 16 de junho de 2020. (WORLDOMETER, 2020) Considerando a estimativa de 90 testes por caso, próxima da Coreia do Sul, necessitaríamos realizar 3.355.020 testes por dia. Se considerarmos a proporção de 30 testes por caso, próxima da Alemanha e Noruega, cerca de

1.118.340 testes por dia para orientar um controle efetivo. O objetivo de realizar mais de 1 milhão de testes por dia é muito difícil de alcançar, principalmente com o curto espaço de tempo para retorno do resultado a tempo de ter impacto no controle. Além do número elevado de testes e da demora para obter o resultado, devem ser salientadas as limitações do RT-qPCR para diagnóstico de COVID-19, como a necessidade de coleta precoce das amostras – menos de sete dias a partir do início dos sintomas – e sua sensibilidade relativamente baixa, o que tem resultado na aplicação de outros critérios, como clínico-radiológico e epidemiológico, para definição de casos suspeitos. (LEE et al., 2020) O nosso grande desafio é estabelecer um amplo programa de rastreio e isolamento dos contatos que não dependa somente do resultados dos testes moleculares para detecção viral, enquanto se incrementa a capacidade de testagem para os níveis necessários.

## Recomendações

No momento atual, considerando o conhecimento sobre a COVID-19, a situação epidemiológica do país com grande número de casos e o insuficiente número de testes realizados, um paciente com sintomatologia compatível com a Covid-19 e/ou com exame de RT-qPCR detectável deve ser orientado para acompanhamento médico e para isolamento no sentido de proteger as pessoas no seu entorno. Considerando que grande parte da transmissão ocorre no ambiente domiciliar e/ou laboral, é necessário orientar para que seus contatos sejam avaliados por RT-qPCR. A lista de contatos deve incluir pessoas com as quais esteve no período de dois dias antes e até oito dias após o desenvolvimento dos sintomas.

Todos os casos suspeitos ou contatos de suspeitos devem ser orientados sobre todos os sintomas de COVID-19. É importante

ressaltar que, independente da intensidade dos sintomas, e antes do resultado dos testes de detecção de material viral, deve se proceder isolamento e identificação dos contatos, como estratégia para conter a transmissão.

## Referências

- FAN, W. *et al.* Neutralizing Antibody Responses to SARS-CoV-2 in a COVID-19 Recovered Patient Cohort and Their Implications. 2020. DOI: <http://dx.doi.org/10.2139/ssrn.356211>. Disponível em: [https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract\\_id=3566211](https://papers.ssrn.com/sol3/papers.cfm?abstract_id=3566211). Acesso em: 5 ago. 2020.
- FOUNDATION FOR INNOVATIVE NEW DIAGNOSTICS - FIND. SARS-COV-2 *Molecular Diagnostics*. Geneva, c2019. Disponível em: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>. Acesso em: 26 jul. 2020.
- HE, X. *et al.* Temporal dynamics in viral shedding and transmissibility of COVID-19. *Nature Medicine*, New York, v. 26, p. 672-675, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0869-5>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0869-5>. Acesso em: 5 ago. 2020.
- HUMANITY tested. *Nature Biomedical Engineering*, London, v. 4, p. 355-356, 2020. Editorial. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41551-020-0553-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41551-020-0553-6>. Acesso em: 5 ago. 2020.
- KUCIRKA, L. M. *et al.* Variation in False-Negative Rate of Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction-Based SARS-CoV-2 Tests by Time Since Exposure. *Annals of Internal Medicine*, Philadelphia, 2020. DOI: 10.7326/M20-1495. Disponível em: <https://www.acpjournals.org/doi/10.7326/M20-1495>. Acesso em: 5 ago. 2020.
- LEE, V.; CHIEW, C.; KHONG, W. Interrupting transmission of COVID-19: lessons from containment efforts in Singapore. *Journal of Travel Medicine*, Hamilton, ON, v. 27, n. 3, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1093/jtm/taaa039>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jtm/article/27/3/taaa039/5804843>. Acesso em: 5 ago. 2020.

LIU, L. *et al.* A preliminary study on serological assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) in 238 admitted hospital patients. *Microbes and Infection*, 2020. DOI: 10.1016/j.micinf.2020.05.008. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1286457920300861?via%3Dihub>. Acesso em: 5 ago. 2020.

LIU, W. *et al.* Evaluation of Nucleocapsid and Spike Protein-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assays for Detecting Antibodies against SARS-CoV-2. *Journal of Clinical Microbiology*, Washington, v. 58, n. 6, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.00461-20>. Disponível em: <https://jcm.asm.org/content/58/6/e00461-20>. Acesso em: 5 ago. 2020.

LONG, Q.-X. *et al.* Clinical and immunological assessment of asymptomatic SARS-CoV-2 infections. *Nature Medicine*, New York, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41591-020-0965-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0965-6>. Acesso em: 5 ago. 2020.

MAIER, B.; BROCKMAN, D. Â. An effective containment explains subexponential growth in recent confirmed COVID-19 cases in China. *Science*, Washington, v. 368, n. 6492, p. 742-746, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1126/science.abb4557>. Disponível em: <https://science.sciencemag.org/content/368/6492/742>. Acesso em: 5 ago. 2020.

OKBA, N. M. A. *et al.* Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2-specific antibody responses in coronavirus disease 2019 patients. *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 26, n. 7, p. 1478-1488, 2020. DOI: 10.3201/eid2607.200841. Disponível em: [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-0841\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/26/7/20-0841_article). Acesso em: 5 ago. 2020.

PAN, Y. *et al.* Serological immunochromatographic approach in diagnosis with SARS-CoV-2 infected COVID-19 patients. *Journal of Infection*, [s. l.], v. 81, n. 1, p. E28-E32, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.051>. Disponível em: [https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453\(20\)30175-4/fulltext](https://www.journalofinfection.com/article/S0163-4453(20)30175-4/fulltext). Acesso em: 5 ago. 2020.

PERON, J. P. S.; NAKAYA, H. Susceptibility of the Elderly to SARS-CoV-2 Infection: ACE-2 Overexpression, Shedding, and Antibody-dependent Enhancement (ADE). *Clinics*, São Paulo, v. 75, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.6061/clinics/2020/e1912>. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7213670/>. Acesso em: 5 ago. 2020.



ROBBIANI, D. *et al.* Convergent Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Convalescent Individuals. *Nature*, London, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2456-9>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2456-9>. Acesso em: 5 ago. 2020.

SETHURAMAN, N.; JEREMIAH, S.; RYO, A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*, Chicago, v. 323, n. 22, p. 2249, 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.8259. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837>. Acesso em: 5 ago. 2020.

TO, K K-W. *et al.* Consistent Detection of 2019 Novel Coronavirus in Saliva. *Clinical Infectious Diseases*, Chicago, v. 71, n. 15, p. 841-843, 2020a. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa149>. Disponível em: <https://academic.oup.com/cid/article/71/15/841/5734265>. Acesso em: 5 ago. 2020.

TO, K. K-W. *et al.* Temporal profiles of viral load in posterior oropharyngeal saliva samples and serum antibody responses during infection by SARS-CoV-2: an observational cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, New York, v. 20, n. 5, p. 565-574, 2020b. DOI: [https://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099\(20\)30196-1](https://dx.doi.org/10.1016/s1473-3099(20)30196-1). Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1473309920301961>. Acesso em: 5 ago. 2020.

WANG, W. *et al.* Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*, Chicago, v. 323, n. 18, p. 1843-1844, Mar. 2020. DOI: 10.1001/jama.2020.3786. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2762997>. Acesso em: 5 ago. 2020.

WÖLFEL, R. *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature*, London, v. 58, n. 7809, p. 465-469, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1038/s41586-020-2196-x>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41586-020-2196-x>. Acesso em: 5 ago. 2020

WORLDOMETER. *COVID-19 coronavirus Pandemic*. [S. l.], 2020. Disponível em: <https://www.worldometers.info/coronavirus/>. Acesso em: 29 jul. 2020.

WYLLIE, A. L. *et al.* Saliva is more sensitive for SARS-CoV-2 detection in COVID-19 patients than nasopharyngeal swabs. *MedRxiv*, [s. l.], 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.04.16.20067835>. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.04.16.20067835v1>. Acesso em: 5 ago. 2020

XU, X. *et al.* Seroprevalence of immunoglobulin M and G antibodies against SARS-CoV-2 in China. *Nature Medicine*, New York, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41591-020-0949-6>. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41591-020-0949-6>. Acesso em: 5 ago. 2020

YAN, C. *et al.* Rapid and visual detection of 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2) by a reverse transcription loop-mediated isothermal amplification assay. *Clinical Microbiology and Infection*, [Philadelphia], v. 26, p. 6, p. 773-779, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.cmi.2020.04.001>. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1198743X20301865>. Acesso em: 5 ago. 2020.

YU, L. *et al.* Rapid colorimetric detection of COVID-19 coronavirus using a reverse transcriptional loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP) diagnostic platform: iLACO. *MedRxiv*, [s. l.], 2020. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.02.20.20025874>. Disponível em: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2020.02.20.20025874v1>. Acesso em: 29 jul. 2020.

ZHANG, J. *et al.* Navigating the Pandemic Response Life Cycle: Molecular Diagnostics and Immunoassays in the Context of COVID-19 Management. *IEEE Reviews in Biomedical Engineering*, Piscataway, NJ, 2020. DOI: <https://dx.doi.org/10.1109/RBME.2020.2991444>. Disponível em: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9082158/> Acesso em: 5 ago. 2020.