

Teste Serológico: Um Auxílio no Diagnóstico de COVID-19

Serological Test: Supporting the Diagnosis of COVID-19

Catarina Borges Fernandes¹, António Marcos Sampaio¹, Paulo Torres Ramalho¹, Rui Veiga¹, Alberto Leite¹, Margarida Pereira e Alvelos¹, Paulo Bettencourt¹

Autor Correspondente/Corresponding Author:

Catarina Borges Fernandes [catarina.c.fernandes@jmellosaude.pt]
Estrada Exterior da Circunvalação 14341, 4100-180 Porto, Portugal
ORCID iD: 0000-0002-0125-4147

RESUMO

O surgimento do vírus da síndrome respiratória aguda grave – coronavírus 2, responsável pela doença COVID-19, conduziu a um rápido desenvolvimento de métodos moleculares e serológicos para o seu diagnóstico. Apesar de o teste molecular de amostras do trato respiratório ser o teste de diagnóstico *standard*, verifica-se um interesse crescente pelo uso de exames serológicos, mas existe, ainda, evidência limitada sobre os mesmos. Os autores apresentam dois casos clínicos em que traduzem algumas das vantagens da utilização do teste serológico como complementar no diagnóstico da infeção pelo vírus da síndrome respiratória aguda grave – coronavírus 2, nomeadamente nos casos ativos de COVID-19, que apresentam teste molecular inicial negativo.

PALAVRAS-CHAVE: COVID-19; Infeções por Coronavírus; SARS-CoV-2; Testes Serológicos

ABSTRACT

The emergence of the severe acute respiratory syndrome virus - coronavirus 2, responsible for COVID-19 disease, led to a rapid development of molecular and serological methods for its diagnosis. Although the molecular test of respiratory tract samples is the standard diagnostic test, there is a growing interest in the use of serological tests, but there is still limited evidence about them. The authors present two clinical cases in which they exhibit some of the advantages of using the serological test as a complement in the diagnosis of infection by the severe acute respiratory syndrome virus - coronavirus 2, especially in the active cases of COVID-19, which present with negative initial molecular test.

KEYWORDS: Coronavirus Infections; COVID-19; SARS-CoV-2; Serologic Tests

1. Serviço de Medicina Interna Hospital CUF Porto, Porto, Portugal.

Recebido/Received: 29/05/2020 - Aceite/Accepted: 05/06/2020 - Publicado/Published: 30/06/2020

© Autor (es) (ou seu (s) empregador (es)) 2020. Reutilização permitida de acordo com CC BY-NC. Nenhuma reutilização comercial. © Author(s) (or their employer(s)) 2020. Re-use permitted under CC BY-NC. No commercial re-use.

INTRODUÇÃO

O surgimento do vírus da síndrome respiratória aguda grave – coronavírus 2 (SARS-CoV-2), responsável pela doença COVID-19, conduziu a um rápido desenvolvimento de métodos moleculares e serológicos para identificação de infecções por SARS-CoV-2.¹

O teste molecular de amostras do trato respiratório para detetar RNA de SARS-CoV-2 é o teste de diagnóstico *standard* para o diagnóstico de COVID-19.^{1,2} Para além dos testes moleculares, há um interesse crescente pelo uso de exames serológicos para detetar anticorpos contra SARS-CoV-2, mas existe, ainda, evidência limitada sobre os testes serológicos atualmente disponíveis.¹

Os testes que avaliam a resposta imune, ao contrário dos testes moleculares, são marcadores indiretos de infecção.^{1,3} De facto, os testes serológicos não são informativos no diagnóstico precoce de infecções agudas víricas do trato respiratório, dado o início da clínica da infecção ocorrer antes do desenvolvimento de uma resposta imune.¹

Contudo, os testes moleculares que detetam RNA viral também podem apresentar resultados falso-negativos.⁴ O método de PCR pode não detetar o vírus no estágio muito inicial da infecção ou no estágio tardio quando a carga viral é muito baixa.^{4,7} Embora a sua sensibilidade analítica seja geralmente alta, a deteção depende de vários fatores, como o tempo de infecção à data da colheita, tipo de amostra, técnica de colheita, qualidade da amostra, condições de transporte e armazenamento, kits de deteção e mutações na sequência alvo do gene.^{4,6}

Os testes serológicos são, comparativamente com os testes moleculares, mais fáceis de realizar, exigindo menos equipamentos, e são geralmente mais rápidos, com resultados em apenas 15-20 minutos, em comparação com a deteção de ácidos nucleicos.⁴ Existem diversos equipamentos serológicos aprovados para deteção de IgG e IgM de SARS-CoV-2. A sua indicação clínica é a de complementaridade para o diagnóstico e não para o rastreio geral da infecção, devido à especificidade e sensibilidade muito variável dos mesmos.⁸

Apesar de os resultados serológicos, por si só, não poderem confirmar ou excluir o diagnóstico ou informar o *status* da infecção e não estarem recomendados para diagnóstico,⁴ dados chineses mostraram que a taxa de deteção positiva aumentou significativamente quando a PCR é usada em combinação com o teste IgM ELISA (98,6%) em comparação com a PCR isolada (51,9%). Estes resultados sugerem que a deteção de anticorpos pode melhorar a exatidão do diagnóstico de

COVID-19.⁹ Estudos recentes avaliaram o papel potencial dos anticorpos IgM para o SARS-CoV-2 como marcador de infecção recente.¹ Guo *et al*,⁹ através de um teste de ELISA desenvolvido com antigénio recombinante SARS-CoV-2, demonstraram que os anticorpos IgM eram detetáveis em 85% dos doentes com diagnóstico confirmado de COVID-19 entre o primeiro e o sétimo dia após o início dos sintomas.^{9,10} Comparado com outras classes de anticorpos, o IgG é um anticorpo de maior duração e que está associado à atividade de neutralização viral, o que provavelmente é essencial para a recuperação da COVID-19.¹ Dados preliminares sugerem que o desenvolvimento de IgG contra diferentes antigénios SARS-CoV-2 se torna detetável em doentes imunocompetentes após, pelo menos, 8 dias de sintomas, com mais de 90% dos indivíduos seropositivos após 14º dia de doença, embora alguns indivíduos demorem mais tempo a se seroconverter, dependendo do estado imunológico, ou podem até nunca poder seroconverter-se se encontrarem significativamente imunossuprimidos.^{1,10}

Neste sentido, os autores apresentam dois casos clínicos em que descrevem o papel desempenhado pelo teste serológico como complementar no diagnóstico da infecção por SARS-CoV-2.

CASOS CLÍNICOS

CASO CLÍNICO 1

Homem de 57 anos, ex-fumador, com antecedentes de carcinoma de pequenas células do pulmão estágio IV sob quimioterapia, apresenta-se com um quadro com duas semanas de evolução de dispneia, tosse seca e astenia. Objetivamente não apresentava alterações relevantes para além de insuficiência respiratória hipoxémica ligeira. A tomografia computadorizada (TC) de tórax evidenciava na base pulmonar esquerda algumas áreas de densificação em vidro despolido, não observáveis em exame prévio, que poderiam ser enquadráveis na infecção por COVID-19. Analiticamente apresentava leucocitose (17 900 leucócitos/uL), com neutrofilia relativa (96%) e linfopenia (770 linfócitos/uL); elevação da PCR (8,410 mg/dL), VS aumentada (77 mm/h); ferritina aumentada (490 ng/mL); d-dímeros elevados (1099 ng/mL); DHL aumentada (262 mg/dL) e lesão renal aguda ligeira. Foi feita pesquisa de PCR de SARS-CoV-2 em amostra de zaragatoa nasofaríngea, sendo que o resultado foi negativo. Dada a elevada suspeição clínica e pelo facto de o doente se encontrar no 14º dia de sintomas, procedeu-se à realização do teste serológico rápido que foi positivo para IgM, mantendo-se tratamento dirigido para COVID-19, assim como as respetivas

medidas de isolamento. Entretanto foram feitas mais duas colheitas de zaragatoa da nasofaringe, sendo que, apenas à terceira pesquisa, já em terceiro dia de internamento, foi confirmado por PCR o diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2. O doente cumpriu 8 dias de hidroxocloroquina, 5 dias de azitromicina e 7 dias de ceftriaxone (introduzido pela suspeita de sobreinfecção bacteriana, sustentada pelo valor de procalcitonina elevado), com evolução clínica e analítica favoráveis, com resolução da insuficiência respiratória, sendo que à data da alta apresentava confirmação de cura, com duas pesquisas de RNA de SARS-CoV-2 negativas.

CASO CLÍNICO 2

Homem de 61 anos, sem antecedentes patológicos conhecidos, apresenta-se com quadro com 7 dias de evolução e de agravamento progressivo de febre, dispneia, tosse produtiva e mialgias. Objetivamente apresentava sinais de dificuldade respiratória e insuficiência respiratória hipoxêmica grave, com sons respiratórios diminuídos no hemitórax esquerdo à auscultação pulmonar, sem outras alterações de relevo. A radiografia ao tórax exibia hipotransparências dispersas bilateralmente. Analiticamente apresentava leucocitose ligeira (12 600 leucócitos/uL), com discreta neutrofilia relativa (80%), sem linfopenia absoluta significativa (linfócitos 1800/uL); PCR aumentada (16,11 mg/dL); DHL aumentada (632 U/L) e d-dímeros elevados (3439,76 ng/mL). As antigenúrias para pesquisa de *Legionella* e *Pneumococcus* foram negativas, assim como a PCR para pesquisa de vírus *Influenza* A e B e H1N1, bem como as hemoculturas que não apresentaram crescimento bacteriano. Foi feita pesquisa de PCR de SARS-CoV-2 em amostra de zaragatoa nasofaríngea, sendo que o resultado foi negativo. Dada a elevada suspeição clínica e pelo facto de o doente se encontrar no oitavo dia de sintomas, procedeu-se à realização do teste serológico rápido que foi positivo para IgM e IgG, mantendo-se tratamento dirigido para COVID-19, assim como as respetivas medidas de isolamento. Entretanto foi realizada nova colheita de zaragatoa da nasofaringe para teste molecular, que confirmou o diagnóstico de infecção por SARS-CoV-2. O doente permaneceu internado na unidade de cuidados intensivos, sendo que o quadro clínico acabou por evoluir desfavoravelmente, com agravamento rápido da insuficiência respiratória e necessidade de ventilação mecânica, inicialmente não invasiva e posteriormente invasiva, assim como o desenvolvimento de um estado hiperinflamatório agudo, com agravamento exponencial dos biomarcadores inflamatórios, tendo acabado o doente por falecer ao quarto dia de internamento.

DISCUSSÃO

Nos casos clínicos descritos, os sinais e sintomas clínicos e os achados radiológicos típicos da infecção por SARS-CoV-2 foram confirmados primeiramente pelo teste serológico, seguido pelo teste molecular. Apresenta-se, assim, uma evidência da utilidade clínica dos testes serológicos rápidos, pois os resultados positivos podem levar ao diagnóstico de casos ativos de COVID-19, que apresentam teste molecular inicial negativo. De facto, os testes serológicos para SARS-CoV-2 podem ser particularmente úteis quando uma serologia positiva é acompanhada por testes de ácido nucleico repetidamente negativos no cenário de uma apresentação clínica altamente sugestiva, sendo que a serologia pode fornecer a base para terapias específicas para a infecção por COVID-19 e para determinar as medidas de controlo de infecção necessárias a estes doentes.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

CONFLITOS DE INTERESSE: Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

FONTES DE FINANCIAMENTO: Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

CONFIDENCIALIDADE DOS DADOS: Os autores declaram ter seguido os protocolos da sua instituição acerca da publicação dos dados de doentes.

CONSENTIMENTO: Consentimento do doente para publicação obtido.

PROVENIÊNCIA E REVISÃO POR PARES: Não comissionado; revisão externa por pares.

ETHICAL DISCLOSURES

CONFLICTS OF INTEREST: The authors have no conflicts of interest to declare.

FINANCING SUPPORT: This work has not received any contribution, grant or scholarship.

CONFIDENTIALITY OF DATA: The authors declare that they have followed the protocols of their work center on the publication of data from patients.

PATIENT CONSENT: Consent for publication was obtained.

PROVENANCE AND PEER REVIEW: Not commissioned; externally peer reviewed.

REFERÊNCIAS

1. Theel ES, Slev P, Wheeler S, Couturier MR, Wong SJ, Kadhoda K. The Role of Antibody Testing for SARS-CoV-2: Is There One? *J Clin Microbiol*. 2020 (in press). doi: 10.1128/JCM.00797-20.
2. Perera RA, Mok CK, Tsang OT, Lv H, Ko RL, Wu NC, et al. Serological assays for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), March 2020. *Euro Surveill*. 2020;25:2000421. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2020.25.16.2000421.
3. Xiao SY, Wu Y, Liu H. Evolving status of the 2019 novel coronavirus infection: Proposal of conventional serologic assays for disease diagnosis and infection monitoring. *J Med Virol*. 2020;92:464-7. doi:10.1002/jmv.25702.
4. Zainol RZ, Othman SN, Abdul Samat MN, Ali UK, Wong KK. Diagnostic performance of COVID-19 serology assays. *Malays J Pathol*. 2020;42:13-21.
5. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han K, Wu G, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. *JAMA*. 2020;323:1843-4. doi:10.1001/jama.2020.3786.
6. Tan GC, Cheong SK. Challenges of Covid-19 testing. *Malays J Pathol*. 2020;42:1.
7. Qu J, Wu C, Li X, Zhang G, Jiang Z, Li X, et al. Profile of IgG and IgM antibodies against severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2). *Clin Infect Dis*. 2020 (in press). doi: 10.1093/cid/ciaa489.
8. Zhao R, Li M, Song H, Chen J, Ren W, Feng Y, et al. Early detection of SARS-CoV-2 antibodies in COVID-19 patients as a serologic marker of infection. *Clin Infect Dis*. 2020 (in press). doi: 10.1093/cid/ciaa523.
9. Guo L, Ren L, Yang S, Xiao M, Chang D, Yang F, et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). *Clin Infect Dis*. 2020 (in press). doi:10.1093/cid/ciaa310.
10. Torres R, Rinder HM. Double-Edged Spike-Are SARS-CoV-2 Serologic Tests Safe Right Now? *Lab Med*. 2020;51:236-8. doi:10.1093/labmed/lmaa025.