

SARS-COV-2 (COVID19), INFECÇÃO POR RT-PCR [cód.11175]

INFORMAÇÕES GERAIS

NOME DO EXAME

Sars-Cov-2 (COVID19)

OUTROS NOMES DO EXAME

COVID-19; Síndrome Respiratória Aguda Grave Coronavírus 2; vírus COVID-19; SARS-CoV-2;

UTILIDADE DO EXAME

INTERPRETAÇÃO CLÍNICA

INFORMAÇÃO CLÍNICA

Uma ampla gama de vírus pode causar infecções respiratórias e atualmente 20–30% dessas etiologias permanecem não identificadas em crianças hospitalizadas. Isso pode ser devido à falta de sensibilidade de alguns dos métodos de detecção e ao fato de que alguns vírus respiratórios não serem sistematicamente procurados. O objetivo deste teste é usar método molecular rápido, sensível e específico para a detecção de um grande painel de vírus de RNA/DNA respiratório que são mais poderosos do que os métodos clássico de ensaio de imunofluorescência e cultura.

A doença do coronavírus 2019 (COVID-19) é uma doença respiratória infecciosa viral causada pelo novo coronavírus SARS-CoV-2 que surgiu em Wuhan, China, no final de 2019, resultando em uma pandemia mundial. A COVID-19 pode progredir para síndrome respiratória aguda grave com pneumonia e síndrome do desconforto respiratório agudo.

Fisiopatologia – o vírus contém uma glicoproteína de superfície na sua espícula que se liga ao hospedeiro por meio de domínios de ligação ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA2), que é mais abundante nas células alveolares do tipo II do pulmão. Depois que o SARS-CoV-2 se liga a uma célula alvo, o vírion libera RNA na célula, iniciando sua replicação que se dissemina para infectar mais células.

O tempo médio entre a exposição e o início dos sintomas é de 5 dias, 97,5% das pessoas que desenvolvem sintomas o fazem em 11,5 dias. A taxa de infecção assintomática é de 46%, rara em crianças, cerca de 2 a 5% dos casos confirmados, com sintomas mais leves e taxa de hospitalização muito baixa (< 7%).

Sintomas comuns em pacientes hospitalizados: Febre (70 - 90%), Tosse seca (60 - 86%), Falta de ar (53 - 80%), Fadiga (38%), Mialgias (15 - 44%), Náuseas / vômitos ou diarreia (15 - 39%), Dor de cabeça, fraqueza (25%). Os pacientes podem apresentar sintomas não clássicos como sintomas gastrointestinais isolados, anosmia (perda do olfato) ou ageusia (perda do paladar) isolada (3%)

Qualquer pessoa com sintomas leves de COVID-19, independentemente do estado de vacinação, deve receber um teste viral para SARS-CoV-2 o mais rápido possível. Pacientes assintomáticos com contato próximo com alguém com infecção por SARS-CoV-2 devem fazer uma série de três testes virais para infecção por SARS-CoV-2. O teste é recomendado imediatamente (mas não antes de 24 horas após a exposição) e, se negativo, novamente 48 horas após o primeiro teste negativo e, se negativo, novamente 48 horas após o segundo teste negativo. Isso normalmente será no dia 1 (onde o dia da exposição é o dia 0), dia 3 e dia 5.

Covid Longa

A COVID Longa, também conhecida como Condições pós-Covid, é uma condição crônica associada à

infecção que pode ocorrer após a infecção pelo SARS-CoV-2, o vírus que causa a COVID-19, e está presente por pelo menos 3 meses como um estado de doença contínuo, recorrente e remitte ou progressivo que afeta um ou mais sistemas orgânicos. A maioria dos pacientes parece se recuperar de sua doença aguda inicial de COVID-19 em 4 semanas, e muitos pacientes continuam a se recuperar entre 4 e 12 semanas. A COVID Longa está associada a:

1. Desenvolvimento de sintomas e condições novas ou recorrentes após a resolução dos sintomas da doença aguda inicial de COVID-19;
2. Sintomas que podem surgir, persistir, resolver e ressurgir ao longo de vários períodos (sintomas e condições podem durar semanas, meses ou até anos, veja abaixo);
3. Um espectro de consequências físicas, sociais e psicológicas;
4. Limitações funcionais que podem afetar o bem-estar e a qualidade de vida do paciente e podem causar incapacidade;

Sintomas de Covid Longa:

1. Sintomas gerais: Cansaço ou fadiga; sintomas que pioram após esforço físico ou mental; febre;
2. Sintomas respiratórios e cardíacos: dispneia; tosse; taquicardia
3. Sintomas neurológicos: Dificuldade para pensar ou se concentrar ("névoa cerebral"); cefaleia; insônia; tontura ao se levantar; formigamento; Mudança no olfato ou paladar; Depressão ou ansiedade;
4. Sintomas digestivos: diarreia, gastrite; constipação
5. Outros sintomas: artrite; eczemas; dismenorreias;

Utilizamos o método primer-sonda para detecções de fragmentos do DNA/RNA virais em equipamentos de PCR em tempo real (RT-qPCR ou transcriptase reversa qualitativa e quantitativa PCR). Logo, este método de detecção é direto. A tabela 1 apresenta as informações dos protocolos de amplificação utilizados assim como a comparação deles com alguns kits comerciais.

INTERPRETAÇÕES

Os vírus e respectivas regiões-alvos de seus genomas estão descritos na primeira e segunda colunas, respectivamente. Os limites de detecção apresentados na terceira coluna foram estimados através da diluição seriada dos genomas virais, sendo consideradas os menores números de cópias para os quais 100% das reações foram positivas. As porcentagens de concordâncias dos resultados positivos e negativos obtidos com nosso protocolo e outros protocolos comerciais estão apresentados na quarta e na quinta colunas, respectivamente.

Tabela 1. Protocolo de detecção dos vírus respiratórios.

Vírus	Região alvo	Limite de Detecção (cópias por reação)	Resultados positivos	Resultados negativos
SARS-CoV-2 (COVID19)	Genes S e N	50	98,2% ¹	100% ¹

Observações: 1. Resultados obtidos na comparação com o ensaio TaqPath COVID-19 (ThermoFisher);

INTERPRETAÇÃO DO EXAME

1. Resultado "Detectado" indica a presença do patógeno na amostra.
2. Resultado "Não Detectado" indica a ausência do patógeno ou concentração inferior ao limite de detecção (LoD) do teste.
3. Resultado "Inconclusivo": Sem amplificação do controle interno.

Nem todos os resultados positivos indicam infecção ativa atual. Episódios assintomáticos são especialmente comuns para Bocavírus e Rinovírus, então um julgamento clínico deve ser feito sobre se o vírus detectado

está causando os sintomas do paciente ou se os sintomas estão ocorrendo incidentalmente durante um período de detecção viral assintomática.

ESTABILIDADE

Refrigerada: 2° a 8°C até 72 horas

MÉTODO

METODOLOGIA

Detecção baseado em Tecnologia do PCR em tempo real (RT-PCR). A detecção dos vírus SARS-CoV-2, utiliza kit IVD (diagnóstico *in vitro*) da Thermo Fisher®. Os ensaios moleculares que dependem da detecção de ácidos nucleicos virais, fornecem resultados rápidos com alta sensibilidade e especificidade, tornando-os testes ideais quando usados no contexto de uma avaliação clínica cuidadosa.

PRAZO

Até 6 horas

AMOSTRA

TIPO DE ESPÉCIME

Obtenção de amostras Swab Nasal ou Escarro. Exame exclusivamente para pacientes com sintomatologia.

INFORMAÇÃO NECESSÁRIA

A amostra para exame pode ser coletado no domicílio sem qualquer custo adicional. Os prazos para entrega de resultados obedecem aos seguintes critérios: Amostras coletadas no domicílio (preferível) das 7 às 12 horas terão laudos emitidos até as 18 horas do mesmo dia. Amostras coletadas no domicílio entre 13 e 24 horas terão laudos emitidos até as 7 h do dia seguinte.

INSTRUÇÕES DE ENVIO

Conservação para transporte em São Paulo a temperatura ambiente (estável por 48 horas).

AMOSTRAS REJEITADAS

Amostras enviadas sem meio de transporte viral.

Aliquotagem de amostras para exames moleculares

Alíquota refere-se a uma parte ou porção representativa de uma amostra maior, que é separada para ser utilizada em um outro experimento.

Para que nenhuma informação seja perdida nesse processo, o laboratório deve manter um controle de aliquotagem e em um primeiro momento, o técnico identifica o microtubo que receberá a alíquota e ao mesmo tempo registra junto ao sistema. A aliquotagem deve ser feita por um técnico de laboratório familiarizado com os objetivos da alíquota e os resultados esperados.

O exemplo de aliquotagem será do Líquido de Citologia de Base Líquida (CBL). A CBL, também conhecida como citologia oncológica em meio líquido ou citologia em meio líquido, é uma técnica que em vez de as

células serem raspadas diretamente na lâmina, como na citologia tradicional, elas são coletadas e suspensas em um líquido preservante, o que facilita a detecção de possíveis lesões. O líquido preservante tem na sua composição o metanol que é tóxico para pele, olhos e fígado, então o uso de luvas torna-se imprescindível nesta etapa.

O líquido da CBL pode conter um número variável células livres, debris celulares, células inflamatórias, hemácias, bactérias, vírus, fungos, protozoários, DNA livre, espermatozoides, fibrina, traços de cremes ou outras substâncias usada anteriormente para lavagem vaginal, e muito mais. Tudo isso vem parcialmente livre no líquido preservante ou sedimentado do fundo do frasco. O exame de Patologia Molecular visa extrair todo DNA/RNA contido na amostra. O técnico deve homogeneizar a amostra para tudo ser representado submetendo a amostra a forte agitação motora. Em seguida transferir 1,5 ml desse líquido usando uma pipeta de Pasteur para o microtubo e descartá-la. Usar um microtubo com tampa de rosca (Kasvi é recomendado) e nunca a um microtubo de fechamento por pressão, pois este pode abrir espontaneamente no traslado ao laboratório. Lembre-se, se aliquotar mais que o necessário (CBL originalmente com 18 ml de preservante), pode-se interferir no processamento automático da citologia por pouco líquido. Nestes casos o técnico deverá repor a volumetria com líquido preservante ou mesmo álcool 70% na falta do primeiro.

