



Testes Imunológicos Rápidos SARS-COV-2 -Uma Experiência na Beira Baixa

Rapid Immune Tests SARS-COV-2 – An Experience in Beira Baixa

DOI:10.56238/isevjhv1n2-001

Recebimento dos originais: 01/07/2022

Aceitação para publicação: 25/07/2022

Francisco Rodrigues

Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural)
Sport Health & Exercise Unit (SHERU)
Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD
E-mail: franciscobrodrigues@ipcb.pt

Patrícia Coelho

Sport, Health & Exercise Unit (SHERU)
Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural)
Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD

Joana Liberal

Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural)
Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD

Manuel Martins

Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural)
Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD

Catarina Gavinhos

Qualidade de Vida no Mundo Rural (QRural)
Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD

Adriana Santos

BsC – Instituto Politécnico de Castelo Branco

Inês Ribeiro

BsC – Instituto Politécnico de Castelo Branco

Cristina Carrondo

Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD

Elsa Alves

BsC – Instituto Politécnico de Castelo Branco

RESUMO

Introdução: O SARS-CoV-2 afeta as células epiteliais do trato respiratório, causando infecções graves. Por ser uma patologia com um alto nível de transmissibilidade, torna-se central para os testes em massa. Além disso, houve também a necessidade de monitorar a epidemia através de testes serológicos. Objetivo: Avaliar a presença de anticorpos contra a SRA-CoV-2 na comunidade residente na Beira Baixa através de testes imunológicos de triagem. Materiais e métodos: Estudo analítico, transversal e observacional, cuja amostra consiste de 206 indivíduos. A coleta de dados foi realizada entre fevereiro e abril de 2021, nos laboratórios da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias. Foi aplicado o consentimento informado verbal, um questionário para coleta de dados

sociodemográficos e o teste serológico. Resultados: Do número total de participantes, 15,5% admitiram ter tido COVID-19, dos quais 0,5% suspeitaram ter sido infectados e 84% disseram nunca ter sido infectados. Com relação à presença de anticorpos, 2,9% dos testes realizados foram positivos para a presença de IgM's, enquanto 30,1% foram positivos para a presença de IgG's. Quanto à vacinação, no momento da investigação, apenas 10,2% dos participantes foram vacinados, dos quais 9,7% tinham anticorpos IgG. Conclusão: Os testes sorológicos rápidos podem fornecer informações sobre a presença de anticorpos ao SRA-CoV-2, sendo assim uma ferramenta muito vantajosa para estudos de imunidade.

Palavras-chave: SARS-CoV-2, testes serológicos, imunidade.

1 INTRODUÇÃO

Os coronavírus pertencem à família Coronaviridae, constituindo agentes etiológicos de infecções humanas, que afetam principalmente as células epiteliais do trato respiratório superior.

Em 2019, a SARS-CoV-2 (Síndrome Respiratória Aguda Severa - Coronavírus - 2) foi identificada pela primeira vez na cidade de Wuhan, responsável pela COVID-19 (doença de Coronavirus) que se espalhou rapidamente pelo mundo. A COVID-19, causando uma pandemia global (Gautret, Million, Jarrot, Camoin-Jau, Colson, Fenollar, Leone, La Scola, Devaux, Gaubert, Mege, Vitte, Melenotte, Rolain, Parola, Lagier, Brouqui e Raoult, 2020).

Devido ao rápido progresso da pandemia, os testes para a COVID-19 se tornaram cruciais para controlar a transmissão do vírus na comunidade. Entretanto, juntamente com o desenvolvimento de testes diagnósticos, dos quais se destaca a PCR em tempo real (RT-PCR), houve a necessidade de monitorar a epidemia através de testes serológicos (Zhengtu, Yongxiang, Xiaomei, Nian, Yang, Shaoqiang, Ruilin, Yanqun, Bicheng, Wei, Yongchen, Jing, Baofu, Ye, Jiasheng, Wensheng, Xuefeng, Jing, Zhiqiang, Kangjun, Weimin, Zhifei, Liyan e Feng, 2020).

Sabe-se que após o contato com o vírus, o sistema imunológico induz a produção de anticorpos por linfócitos B, tendo como alvo principal a proteína Spike (S), bem como outras proteínas do nucleocapsid e do envelope. (Kang, Huang, Ouyang, Du, Yang, Chi, He, Ying, Chen e Wang, 2021).

Os anticorpos da classe IgM são os primeiros a serem produzidos, constituindo a primeira linha de defesa contra infecções virais. O título de anticorpos IgM atinge um pico durante os primeiros dias da fase aguda da infecção, permanecendo em circulação por aproximadamente 5 a 7 dias. Mais tarde, o sistema imunológico começa a produzir IgGs, que são mantidos por várias semanas após a infecção primária e em casos de reinfecção. (Deeks, Dinnes,

Takwoingi, Davenport, Spijker, Taylor-Phillips, Adriano, Beese, Dretzke, Ferrante di Ruffano, Harris, Harris, Price, Dittrich, Emperador, Hooft, Leeftang e Van den Bruel, 2020).

A avaliação da imunidade contra o SARS-CoV-2 é extremamente importante, pois permite à comunidade científica compreender o processo da resposta imunológica durante e após a infecção pelo mesmo. O conhecimento da interação do SRA-CoV-2 com o sistema imunológico tornou-se um dos principais aliados para compreender a progressão da infecção e os efeitos protetores dos anticorpos a longo prazo. (Figueiredo-Campos et al., 2020) Assim, os testes serológicos são o método mais adequado para este fim, pois se baseiam na detecção de anticorpos circulantes que surgem quando expostos ao coronavírus, através da imunocromatografia.

O principal objetivo desta investigação foi avaliar a presença de anticorpos contra o SARSCoV-2 na comunidade residente na Beira Baixa, utilizando testes imunológicos rápidos.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

O presente estudo é um tipo analítico observacional e transversal. A coleta de amostras foi realizada durante os meses de fevereiro, março e abril de 2021, nos laboratórios da Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, do Instituto Politécnico de Castelo Branco.

2.2 PROTOCOLO DE ESTUDO

Após divulgar à comunidade a possibilidade de realizar testes serológicos rápidos, todos os dados utilizados para esta investigação foram registrados em um banco de dados.

O consentimento informado verbal e um questionário foram aplicados a cada participante. Os dados foram codificados a fim de obter uma identificação que não se referisse a nenhum dado que pudesse identificar o participante, a fim de garantir a confidencialidade.

2.3 VARIÁVEIS COLETADAS

Para realizar a avaliação e identificação dos indivíduos com imunidade à COVID-19, foram coletadas as seguintes variáveis qualitativas nominais: sexo, IgM (imunoglobulinas M) e IgG (imunoglobulinas G), presença da doença antes desta avaliação, e vacinação para a mesma.

3 PROCEDIMENTO

O kit DIASource Immunoassays® foi usado para a detecção qualitativa de IgG e IgM específicos de 2019-nCoV no sangue total. A obtenção de amostras de sangue total foi realizada através da coleta de sangue capilar.

3.1 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As variáveis foram codificadas (obtidas através da pesquisa) para serem analisadas utilizando o programa de análise estatística SPSS®. A normalidade foi avaliada usando o teste Kolmogorov - Smirnov e o teste Mann Whitney (paramétrico) foi usado para associação entre as variáveis. Foi estabelecido um intervalo de confiança de 95% e como critério de significância estatística foi estabelecido um valor de $p \leq 0.05$.

3.2 QUESTÕES ÉTICAS

A equipe de pesquisa respeitou e cumpriu os princípios mencionados na declaração de Helsinque, garantindo que não houvesse conflitos de interesse.

Os dados fornecidos pelos participantes são de acesso exclusivo para a equipe de pesquisa. Os dados coletados foram utilizados para análise estatística e este trabalho é de interesse apenas acadêmico, sem qualquer interesse econômico.

4 RESULTADOS

Foram analisados dados de 206 participantes, dos quais 115 (55,8%) eram mulheres e 91 (44,2%) eram homens, com idade média de $45,51 \pm 16,877$ anos, sendo a idade mínima de 4 anos e máxima de 83 anos. Também pôde ser visto que a classe etária mais predominante era a de 51 a 60 anos, correspondendo a um total de 48 (23,3%) participantes. Do número total de participantes, 15,5% (n=32) admitiram ter tido COVID-19, 0,5% (n=1) suspeitaram ter sido infectados e 84% (n=173) disseram nunca ter sido infectados.

Quanto à presença de anticorpos, 2,9% dos testes realizados foram positivos para a presença de IgM's e IgG's simultaneamente, enquanto 30,1% foram positivos apenas para a presença de IgG's.

Na época da investigação, apenas 21 participantes (10,2%) haviam iniciado o processo de vacinação contra a COVID-19. Entretanto, apenas 20 indivíduos (9,7%) tinham anticorpos positivos da classe IgG e foram vacinados.

O teste Kolmogorov - Smirnov mostrou que a amostra foi normalmente distribuída, usando o teste paramétrico Mann Whitney, obtendo o seguinte significado ao comparar as variáveis acima mencionadas e a presença de imunoglobulina G pela SARS-CoV-2

Tabela 1 - Significado estatístico entre a presença de imunoglobulinas e as variáveis mencionadas abaixo.

Variável	<i>p</i> valor	Significância estatística
Classes de idade	0,798	Não
COVID-19	<0.05	Sim
Sexo	0.623	Não
Vacinação	<0.05	Sim

5 DISCUSSION

Após análise dos resultados, a presença de anticorpos foi confirmada em indivíduos que já haviam testado positivo para infecção. Dos 15,5%, 2,4% tinham anticorpos IgM e 14,6% tinham anticorpos IgG, e no número total de indivíduos, a soroprevalência encontrada foi de 2,9% e 30,1%, respectivamente. Deve-se observar que todos os indivíduos que apresentaram anticorpos IgM também apresentaram anticorpos IgG. Estes resultados demonstraram que a maioria dos indivíduos apresentava apenas anticorpos da classe IgG, consistentes com infecções mais antigas. (Chansaenroj, Yorsaeng, Posuwan, Puenpa, Sudhinaraset, Chirathaworn e Poovorawan, 2021).

Quanto à distribuição por sexo, ao contrário do que foi mencionado na "Pesquisa Serológica Nacional COVID-19 (ISN COVID-19)". (Ana Paula Rodrigues, Ana Cristina Garcia, 2021), não foi encontrada nenhuma associação estatisticamente significativa entre sexo e a presença de anticorpos contra o SRA-CoV-2, com uma prevalência até ligeiramente maior de anticorpos em fêmeas (17,9% vs. 15,1%). Houve também uma maior prevalência de anticorpos nas classes de idade de 41 a 50 anos e de 51 a 60 anos (IgM - 1,5% em ambos; IgG - 8,5% vs. 9,5%), como observado no "National Serological Survey COVID-19 (ISN COVID-19)". (Ana Paula Rodrigues, Ana Cristina Garcia, 2021). Mesmo assim, existem algumas discrepâncias nos resultados obtidos quando comparados com os resultados da "Pesquisa Serológica Nacional COVID-19 (ISN COVID-19)", justificados, por exemplo, pelo tipo de amostragem, que foi uma amostragem por cotas, enquanto que o presente estudo apresenta uma amostra de conveniência.

A alta emergência no controle da pandemia, determinou que a comunidade científica se dedicasse à produção de vacinas eficazes na imunização contra o SARS-CoV-2. Atualmente, sabe-se que a principal classe de anticorpos produzidos após a vacinação é a IgG. (Dai & Gao,

2021) Os resultados deste estudo confirmam estes dados, verificando que a grande maioria dos indivíduos vacinados tinha anticorpos da classe IgG contra o SARS-CoV-2. A diferença entre todos os indivíduos vacinados e aqueles que tinham anticorpos IgG pode ser devida ao fato de que apenas a primeira dose de vacina foi administrada ao indivíduo que testou negativo para a presença de IgG's. (Guo, Mi e Nie, 2020) Também deve ser notado que muitos dos respondentes tinham sido vacinados por menos de 14 dias, portanto, de acordo com alguns estudos, o tempo suficiente para uma resposta fisiológica pode não ter decorrido. (Mahajan e Manchikanti, 2020) Ainda assim, a maioria dos indivíduos vacinados tinha anticorpos contra o vírus.

Como tem sido muito debatido, apesar da importância destas análises, este tipo de testes não indica quando o indivíduo foi infectado, nem o período de tempo de infecção, que é sempre um dos principais pontos abordados pela maioria dos trabalhos na área. (Li et al., 2020).

Muitas empresas comerciais investiram em testes serológicos de anticorpos, sendo amplamente aceitas na comunidade científica, porém, sempre levando em conta suas características particulares, bem como a evolução que vêm experimentando desde sua fase inicial. (de Jong, Rosing, Vermunt, Huitema e Beijnen, 2021). Com efeito, há um aumento dos níveis de sensibilidade e especificidade que estes testes rápidos adquiriram (Deeks et al, 2020). Entretanto, estes testes têm uma sensibilidade menor do que outros métodos de referência, portanto podem não ser suficientes para a detecção de baixos títulos de anticorpos, que podem resultar em uma porcentagem maior de falsos negativos, e não são adequados para procedimentos de diagnóstico clínico (Cassaniti, Novazzi, Giardina, Salinaro, Sachs, Perlini, Bruno, Mojoli, Baldanti; Membros da Força Tarefa San Matteo Pavia COVID-19, 2020), embora alguns trabalhos tenham apontado na direção oposta (Indenbaum, Koren, Katz-Likvornik, Yitzchaki, Halpern, Regev-Yochay, Cohen, Biber, Feferman, Cohen Saban, Dhan, Levin, Gozlan, Weil, Mor, Mandelboim, Sofer, Mendelson e Lustig, 2020). Além disso, a presença de falsos negativos pode estar relacionada a uma resposta imune mais longa e menos eficaz, uma vez que varia de indivíduo para indivíduo. (Li et al., 2020).

Além disso, estes testes não permitem determinar a origem dos anticorpos, uma vez que, como já mencionado, os IgGs podem vir de uma infecção anterior ou da vacinação (Pieri, Nuccetelli, Nicolai, Sarubbi, Grelli e Bernardini, 2021). Desta forma, eles devem ser complementados com outros métodos para obter um diagnóstico mais preciso da COVID-19, ou seja, nos casos em que apenas anticorpos da classe IgM são detectados. (Mekonnen, Mengist, Derbie, Nibret, Munshea, He, Li e Jin, 2021).



Há um enorme esforço para validar cada vez mais testes, utilizando as metodologias mais capazes e, assim, aumentando a capacidade de triagem e avaliação da imunidade da população. Este tipo de estudos pode ajudar significativamente as autoridades sanitárias a estimar o número de infectados na epidemia, prever a propagação futura, determinar a eficácia das vacinas e priorizar quais pessoas devem ser vacinadas/receber uma vacina de reforço. Assim, há vários trabalhos que estão sendo desenvolvidos neste sentido, destacando-se por enquanto o projeto "Beira Baixa Com Vida", a ser desenvolvido no Instituto Politécnico de Castelo Branco/Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias e que quer conhecer o cenário imunológico da população da Beira Baixa em relação à SARS-COV-2, que apresentará resultados preliminares em breve.

6 CONCLUSÃO

Com a conclusão do presente estudo, percebeu-se que os testes serológicos rápidos são uma ferramenta importante para obter conhecimento sobre a imunidade adquirida durante e após a infecção pelo SRA-CoV-2. Estes testes provaram ser bastante promissores, tendo várias vantagens. Entretanto, eles revelam algumas limitações que, para serem superadas, estes testes devem ser complementados com outros métodos.

REFERÊNCIAS

Cassaniti I, Novazzi F, Giardina F, Salinaro F, Sachs M, Perlini S, Bruno R, Mojoli F, Baldanti F; Membros da Força-Tarefa San Matteo Pavia COVID-19. O desempenho do Teste Rápido igm/igg do vivadiag COVID-19 é inadequado para o diagnóstico de COVID-19 em pacientes agudos referentes ao pronto-socorro. *J Med Virol.* 2020 ;92(10):1724-1727. Doi: 10.1002/jmv.25800. Epub 2020 Abr 8. PMID: 32227490; PMCID: PMC7228409.

Chansaenroj J, Yorsaeng R, Posuwan N, Puenpa J, Sudhinaraset N, Chirathaworn C, Poovorawan Y. Detecção de anticorpos sars-cov-2 específicos através de imunoenaios diagnósticos rápidos em pacientes COVID-19. *Virol J.* 2021; 9;18(1):52. Doi: 10.1186/s12985-021-01530-2. PMID: 33750394; PMCID: PMC7942515.

Dai L, Gao GF. Metas virais para vacinas contra o COVID-19. *Nat Rev Immunol.* 2021 Fev;21(2):73-82. Doi: 10.1038/s41577-020-00480-0. Epub 2020 Dez 18. PMID: 33340022; PMCID: PMC7747004.

De Jong KAM, Rosing H, Vermunt M, Huitema ADR, Beijnen JH. Quantificação de anticorpos anti-SARS-cov-2 em soro humano com LC-QTOF-MS. *J Pharm Biomed Anal.* 2021;205:114319. Doi: 10.1016/j.jpba.2021.114319. Epub à frente da impressão. PMID: 34416552; PMCID: PMC8354797.

Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, Davenport C, Spijker R, Taylor-Phillips S, Adriano A, Beese S, Dretzke J, Ferrante di Ruffano L, Harris IM, Price MJ, Ditttrich S, Emperador D, Hooft L, Leeftang MM, Van den Bruel A; Cochrane COVID-19 Grupo de Precisão de Teste de Diagnóstico. Testes de anticorpos para identificação de infecção atual e passada com SARS-cov-2. Banco de dados Cochrane Syst Rev. 2020;6(6):CD013652. Doi: 10.1002/14651858.CD013652. PMID: 32584464; PMCID: PMC7387103.

Gautret P, Million M, Jarrot PA, Camoin-Jau L, Colson P, Fenollar F, Leone M, La Scola B, Devaux C, Gaubert JY, Mege JL, Vitte J, Melenotte C, Rolain JM, Parola P, Lagier JC, Brouqui P, Raoult D. História natural do COVID-19 e opções terapêuticas. *Especialista Rev Clin Immunol.* 2020;16(12):1159-1184. Doi: 10.1080/1744666X.2021.1847640. Epub 2020 Dez 24. 33356661.

Guo CC, Mi JQ, Nie H. Taxa de soropositividade e precisão diagnóstica de testes sorológicos em casos de 2019-ncov: uma análise agrupada de estudos individuais. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2020 Out;24(19):10208-10218. Doi: 10.26355/eurrev_202010_23243. 33090430.

Indenbaum V, Koren R, Katz-Likvornik S, Yitzchaki M, Halpern O, Regev-Yochay G, Cohen C, Biber A, Feferman T, Cohen Saban N, Dhan R, Levin T, Gozlan Y, Weil M, Mor O, Mandelboim M, Sofer D, Mendelson E, Lustig Y. Testing igg antibodies contra o RBD de SARS-cov-2 é suficiente e necessário para o diagnóstico CO-19. *Plos 1.* 2020;15(11):e0241164. Doi: 10.1371/journal.pone.0241164. PMID: 33227020; PMCID: PMC7682882.

Kang K, Huang L, Ouyang C, Du J, Yang B, Chi Y, He S, Ying L, Chen G, Wang J. Development, performance evaluation, e aplicação clínica de um Rapid SARS-cov-2 igm e igg Test Kit baseado em imunoenasão de fluorescência automatizada. *J Med Virol.* 2021;93(5):2838-2847. Doi: 10.1002/jmv.26696. Epub 2021 Mar 1. PMID: 33231312; PMCID: PMC7753814.

Mahajan A, Manchikanti L. Value and Validade do Teste de Anticorpos Coronavirus. *Pain Medical.* 2020; 23(4S):S381-S390. 32942795.



Mekonnen D, Mengist HM, Derbie A, Nibret E, Munshea A, He H, Li B, Jin T. Precisão diagnóstica de testes sorológicos e cinética de síndrome respiratória aguda grave coronavírus 2 anticorpo: Uma revisão sistemática e meta-análise. *Reverendo Med Virol.* 2021;31(3):e2181. Doi: 10.1002/rmv.2181. Epub 2020 Nov 5. 33152146.

Pieri M, Nuccetelli M, Nicolai E, Sarubbi S, Grelli S, Bernardini S. Validação clínica de uma imunoenensaio automatizada de imbâmbulos anti-SARS-cov-2 igg e igm. *J Med Virol.* 2021 Abr;93(4):2523-2528. Doi: 10.1002/jmv.26809. Epub 2021 Jan 26. PMID: 33463719; PMCID: PMC8013349.

Zhengtu L , Yongxiang Y , Xiaomei L , Nian X, Yang L, Shaoqiang L, Ruilin S, Yanqun W, Bicheng H, Wei C, Yongchen Z, Jing W, Baofu H, Ye L, Jiasheng Y, Wensheng C, Xuefeng W, Jing C, Zhiqiang C, Kangjun S, Weimin P, Zhifei Z, Liyan C, Feng Y. Desenvolvimento e aplicação clínica de um teste rápido de anticorpos combinados igm-igg para diagnóstico de infecção sars-cov-2. (2020) *J Med Virol*;92(9):1518-1524. Doi: 10.1002/jmv.25727. Epub 2020 Abr 13.