

CICLO DE REPLICAÇÃO E DIAGNÓSTICO DA INFECÇÃO PELO SARS-CoV-2

REPLICATION CYCLE AND DIAGNOSIS OF INFECTION WITH SARS-CoV-2

Laís Valéria Rezende Fiuza

Universidade Federal da Bahia (UFBA)

Jamile Mendonça Gusmão Cunha

Cunha Centro Universitário UniFTC

André Gusmão Cunha

Professor do Internato de Cirurgia do Curso de Medicina da FTC; da Clínica Cirúrgica da Universidade Estadual da Bahia (UNEB) e de Medicina Pré-hospitalar da Universidade Salvador (UNIFACS).

Andréa Mendonça Gusmão Cunha

Professora da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e da Universidade de Tecnologia e Ciência (UNIFTC). Doutorado em Ciências Médicas pela Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP).

RESUMO: O novo Coronavírus, denominado SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19, possui elevado potencial de infecciosidade, se espalhou rapidamente ao redor do mundo, infectando milhões de pessoas, causando um elevado impacto econômico mundial. Com a descoberta da estrutura e do ciclo replicativo viral, foi possível o desenvolvimento de métodos moleculares e sorológicos para diagnóstico da COVID-19. O presente artigo discutirá um breve histórico acerca dos Coronavírus, o ciclo de replicação do SARS-CoV-2 e sua importância, bem como as metodologias, aplicações e interpretações dos principais métodos laboratoriais utilizados para o diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2, utilizados durante a pandemia.

Palavras-Chave: SARS-CoV-2; COVID-19; Replicação Viral; Coronavírus; Diagnóstico.

ABSTRACT: The new Coronavirus, denominated SARS-CoV-2, causative agent of COVID-19, has a high infectious potential, and it has quickly spread around the world, infecting millions of people, causing a global economic impact. With the discovery of the structure and viral replicative cycle, it was possible to develop molecular and serological methods for the COVID-19's diagnosis. The main article will discuss briefly about the Coronavirus history, the SARS-CoV-2 replication cycle, and its importance, as well as the methodologies, applications, and interpretations of the leading laboratory methods used for the infection's diagnosis by SARS-CoV-2, utilized during the pandemic.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; Viral Replication; Coronavirus; Diagnosis.

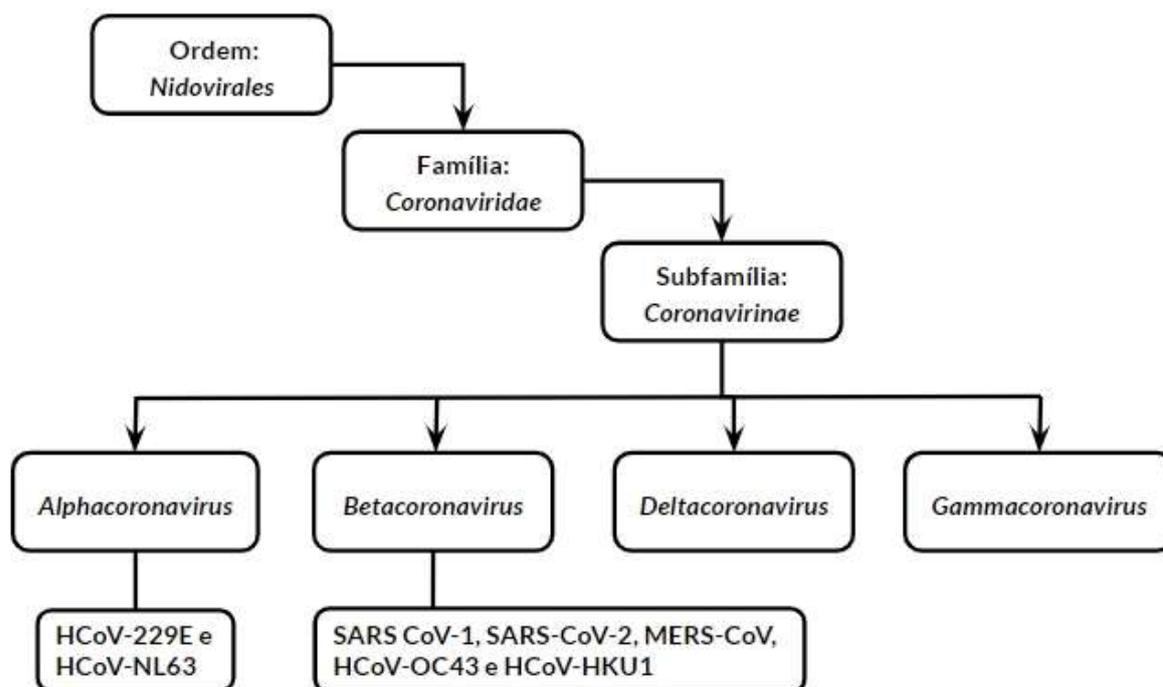
1 INTRODUÇÃO

Os Coronavírus humanos foram descobertos através de um estudo realizado por *Tyrrel* e *Bynoe*, onde foram analisadas amostras biológicas obtidas através de uma coleta feita com swab nasal de um garoto com resfriado comum. Foram executados mais de 20 experimentos em que se testou vários sistemas para cultivo de vírus conhecidos (Influenza A, B ou C, Parainfluenza Vírus, Sincicial Respiratório, Herpesvírus simplex e Adenovírus, Enterovírus, Rinovírus e também pesquisa *Mycoplasma pneumoniae*, onde todos os resultados mostraram que não tinha relação com nenhum dos patógenos e que, provavelmente, se tratava de um vírus desconhecido (TYRRELL e BYNOE, 1965). Posteriormente este vírus foi identificado, caracterizado e denominado Coronavírus, pois seu envoltório possui uma forma estrutural, com picos salientes, semelhantes a uma coroa (“corona” do latim “coroa”) (LI, 2014. ALANAGREH *et al*, 2020).

Os Coronavírus (CoVs) estão incluídos na ordem *Nidovirales*, da família *Coronaviridae*, subfamília *Coronavirinae*, o qual apresenta 4 gêneros: *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus*, *Deltacoronavirus* e *Gammacoronavirus*. Atualmente, são 7 espécies que infectam humanos, distribuídas em 2 gêneros, os *Alphacoronavirus*: HCoV-229E e HCoV-NL63 e os *Betacoronavirus*: SARS CoV-1, SARS-CoV-2, MERS-CoV, HCoV-OC43 e HCoV-HKU1 (Figura 1). As espécies da família *Coronaviridae* englobam um genoma de RNA de sentido positivo, não segmentado, que varia de 27-32 kb e exibem uma forma esférica em torno de 125 nanômetro (nm) de diâmetro (FEHR e PERLMAN, 2015. ALANAGREH *et al*, 2020). Contém quatro ou cinco proteínas estruturais, a proteína Spike (S), presente na superfície viral a qual permite a entrada na célula pela interação e reconhecimento através do domínio ligante do receptor (RBD, do inglês *receptor-binding domain*); a proteína do Envelope (E), que é encontrada em pequenas quantidades no vírion, tem o papel de facilitar a montagem e a liberação do vírus e pode também causar a apoptose; a proteína de Membrana (M), é a mais abundante no vírion, tem as funções de determinar o sítio de brotamento do vírus, atuar na montagem das partículas e interagir com o nucleocapsídeo; a proteína Nucleocapsídeo (N), que é a única presente no capsídeo, atua no empacotamento do genoma encapsidado em partículas virais e está envolvido no ciclo replicação. A proteína Hemaglutinina-Esterase (HE), está presente em um subconjunto de *Betacoronavirus*, atua como uma hemaglutinina, ligando os ácidos siálicos às glicoproteínas de superfície e contém atividade da acetil-esterase, supõem-se que essas atividades melhoram a entrada de células mediadas pela proteína S. O SARS-CoV-2 contém apenas quatro proteínas estruturais principais: a proteína Spike (S), a proteína do Nucleocapsídeo (N), a proteína de Membrana (M) e a proteína do

Envelope (E). O principal determinante do tropismo viral do SARS-CoV-2 é a ligação da proteína Spike (S), localizada no envelope viral, com o receptor da enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2), que está presente na superfície das células do trato respiratório superior e inferior, além de outros órgãos. Quando ocorre essa ligação, iniciasse o processo de adesão do vírus a membrana plasmática da célula alvo, primeira etapa da replicação viral. A segunda etapa, é a penetração viral na célula alvo e para que aconteça é necessário a ativação da proteína Spike (S) pela Protease Transmembranar Serina 2 (TMPRSS2), a qual irá clivar a proteína S permitindo assim a penetração do SARS-CoV-2 na célula hospedeira por endocitose (UJIKE e TAGUCHI, 2015. WILDE *et al*, 2017. SCHOEMAN e FIELDING, 2019).

Figura 1: Taxonomia do Coronavírus.



Fonte: Fluxograma elaborado pelos autores com informações publicadas.

Legenda: HCoV-229 (Coronavírus Humano 229), HCoV-NL63 (Coronavírus Humano NL63), SARS CoV-1 (Coronavírus Associado a Síndrome Respiratória Aguda Severa), SARS-CoV-2 (Coronavírus Associado a Síndrome Respiratória Aguda Severa Tipo 2), MERS-CoV (Coronavírus Associado a Síndrome Respiratória do Oriente Médio) e HCoV-HKU1 (Coronavírus humano HKU1).

Os Coronavírus não eram considerados de grande risco para a saúde humana antes do século XXI, consistiam como resfriando comum e doença respiratória localizada no trato respiratório superior de grau leve. Eram de maior interesse para a medicina veterinária, até o final do ano de 2002 quando se teve a primeira epidemia causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Severa (SARS-CoV), na província de Guangdong, China, que se espalhou para

29 países da Europa, Ásia, América do Norte e América do Sul, em que se teve 8098 pessoas infectadas e 774 óbitos. Após quase dez anos, em junho de 2012, ocorreu a segunda epidemia, causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) em Jeddah, Arábia Saudita, disseminando para 26 países da Europa, América, África e Ásia, em que se teve 1621 pessoas infectadas e 584 óbitos. Em dezembro de 2019, iniciou a mais recente pandemia causada pelo Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Severa Tipo 2 (SARS-CoV-2), na província de Wuhan, China, que se espalhou por vários países da Europa, América, África, Ásia e Oceania (KAHN e MCINTOSH, 2005. AL-OSAIL e AL-WAZZAH, 2017. ANAND *et al*, 2020. COSTA *et al*, 2020).

Os Coronavírus possuem uma rápida transmissibilidade e infecciosidade e “a evolução histórica desses vírus demonstrou que os Coronavírus não são geneticamente estável e podem se adaptar para se tornarem mais virulentos e letais para os seres humanos” (AL-OSAIL e AL-WAZZAH, 2017, p. 2). Devido a sua instabilidade genética, podem sofrer mutações aumentando assim sua virulência, podendo transitar de animais para humanos. Existem duas cepas do SARS-CoV-2 em circulação no mundo, a cepa mais virulenta “L” e a menos virulenta “S” (ALANAGREH *et al*, 2020).

Segundo uma revisão de sequências em bancos de dados, todos os Coronavírus que infectam seres humanos são de origem animal, apresentando a origem possivelmente de morcegos os SARS-CoV-2, SARS-CoV, MERS-CoV, HCoV-229E e HCoV-NL63, e HCoV-OC43 e HKU1 provável origem de roedores. Os morcegos são hospedeiros naturais do *Alphacoronavirus* e *Betacoronavirus*, e na mesma espécie pode apresentar diferentes cepas virais, o que ajuda o aparecimento de novas mutações e variantes, o que pode gerar uma cepa mais virulenta e até mesmo fatal. Acreditam-se que o responsável pela transmissão direta do SARS-CoV aos seres humanos foram as civetas de palma mascarada e do MERS-CoV foram os camelos (CUI *et al*, 2019. COSTA *et al*, 2020).

Notou-se que muitos dos pacientes que foram infectados pelo SARS-CoV-2, inicialmente foram ao mercado de frutos do mar em Huanan, na província de Wuhan, na China, onde foram expostos a animais silvestres. Estudos demonstram que o provável hospedeiro intermediário pode ser o pangolim, o qual apresenta cepas isoladas com maior similaridade de genes entre o CoV de pangolim e o SARS-CoV-2. Como esses animais adoeceram com a infecção pelo SARS-CoV-2, isso demonstram que eles não são um reservatório natural, mas podem permitir a transmissão para humanos. Como hospedeiro primário as pesquisas sugerem ser cepas de

[Revista Fontes Documentais. Aracaju. v. 03, Edição Especial: MEDINFOR VINTE VINTE, p. 127-140, 2020 – ISSN 2595-9778](#)

Coronavírus que infectam o morcego-ferradura (*Rhinolophus mehelyi*). Saber qual o animal é o hospedeiro intermediário é importante para deter e controlar a disseminação da doença e na prevenção de futuras pandemias (ANAND *et al*, 2020. LIU *et al*, 2020. BURKI, 2020).

Os principais sintomas apresentados pelos pacientes infectados pelo SARS-CoV-2, agente etiológico da COVID-19 são: febre, dor de cabeça, tosse, dor de garganta, dores musculares e falta de ar, podendo incluir também conjuntivite, diarreia, vômito e dor abdominal, também foram relatados sintomas menos comum como anosmia (perda do olfato), hiposmia (diminuição do olfato) e ageusia (perda do sentido do paladar) (SINGHAL, 2020. ISER *et al*, 2020).

O conhecimento referente a biologia, estrutura e ciclo de replicação do SARS-CoV-2 é fundamental para o desenvolvimento de terapias antivirais, testes diagnósticos, desenho de vacinas e entendimento da patogênese dessa infecção. No presente trabalho, serão discutidos o ciclo de replicação viral do SARS-CoV-2 e as principais técnicas, atualmente disponíveis, para diagnóstico laboratorial da COVID-19.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 CICLO DE REPLICAÇÃO DO SARS-COV-2

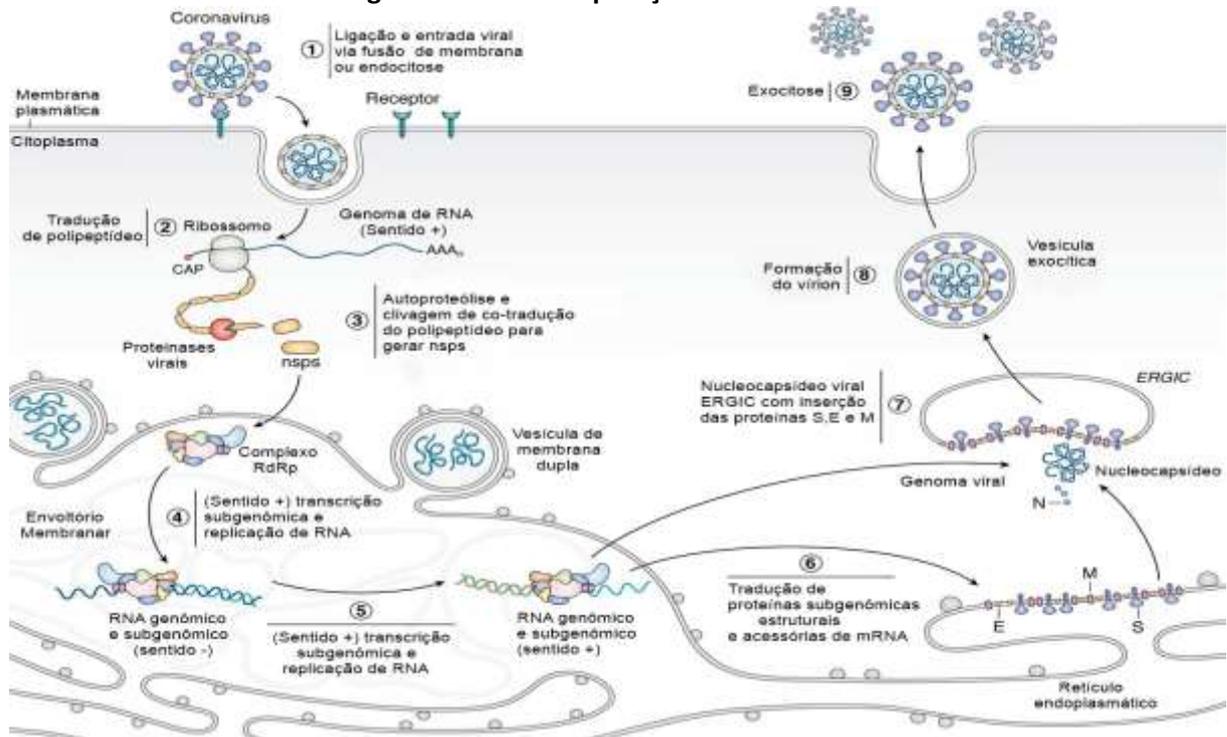
A replicação do SARS-CoV-2, o novo Coronavírus, segue o modelo padrão de replicação da família *Coronaviridae*, com algumas particularidades. Primeiro ocorre a ligação do vírus através da ligação da proteína Spike (S), localizada no envelope viral, com o receptor de Enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2) localizado na membrana plasmática da célula-alvo, iniciando a etapa de adesão. Para o vírus penetrar na célula hospedeira, é necessário a ativação da proteína S pela protease celular Transmembranar Serina 2 (TMPRSS2) que fará a clivagem da proteína S em dois locais, o primeiro no limite de S1/S2 o que leva uma mudança estrutural no local S2 formando uma pré-fusão, e o segundo no S2' que acarretará na ligação das membranas viral e celular permitindo assim a penetração por endocitose (FEHR e PERLMAN, 2015. HOFFMANN *et al*, 2020. HARTENIAN *et al*, 2020).

A seguir, ocorre a fusão entre o envelope viral com a membrana do endossomo, em um ambiente acidificado, etapa de desnudamento, havendo a liberação do genoma viral no citoplasma da célula-alvo. Por apresentar como genoma um RNA de fita simples e polaridade positiva, esse vírus pode ser imediatamente traduzido a nível dos ribossomos da célula

hospedeira. A tradução inicial do RNA viral, mediante a extremidade 5', onde estão codificadas as ORF 1a e ORF 1b dará origem há duas poliproteínas denominadas pp1a e pp1b que contém 16 NSP (16 proteínas não estruturais) 1-11 e 1-16, que serão clivadas nos NSP individuais por proteases do tipo papaína (PLP) e 3CL-protease, formando um complexo replicase-transcriptase (RTC), importante para transcrição e tradução do genoma, onde serão gerados os RNA genômicos e sub-genômicos, na forma de transcrição descontínuas. Outras ORFs, localizadas na extremidade 3', codificam as proteínas estruturais (N, M, E e S). A proteína do Nucleocapsídeo (Proteína N), se associa ao RNA genômico para formar o nucleocapsídeo viral, a Proteína de Membrana (Proteína M), responsável pela formação dos vírions, a proteína de Envelope (Proteína E), responsável pela montagem e liberação dos vírions e a Proteína de Superfície Spike (Proteína S), receptor de adesão e penetração viral nas células hospedeiras (FEHR e PERLMAN, 2015. SANTOS, ROMANOS e WIGG, 2015) (Figura 2).

A duplicação do material genético viral ocorrerá mediante a formação de uma fita molde de polaridade negativa que será transcrita para formação das fitas de polaridade oposta que irão compor os novos vírions. Esse processo ocorre no citoplasma, a nível da região do retículo endoplasmático e Golgi, no Complexo Replicase e Transcriptase (RTC). Concluída a etapa de biossíntese viral, ocorre a montagem e empacotamento do material genético associado a proteína N, com formação do nucleocapsídeo viral. As proteínas S, E e M serão transportadas pelo retículo endoplasmáticos, seguirão para o compartimento intermediário do retículo endoplasmático-Golgi. O nucleocapsídeo viral será direcionado para vesículas formadas no complexo de Golgi, onde brotam para adquirir o envelope viral contendo as proteínas estruturais da superfície. Nesse processo, para formação dos vírions maduros deverá ocorrer a interação com as proteínas M, E e S na formação da partícula completa, sendo a proteína S incorporada pela interação com a proteína M no envelope viral. Após a montagem e aquisição do envelope viral, os vírus se acumulam em vesículas, concluem a maturação e são transportados através dessas vesículas para a superfície celular, onde são liberados por exocitose (FEHR e PERLMAN, 2015. ALANAGREH *et al*, 2020) (Figura 2).

Figura 2: Ciclo de Replicação do SARS-CoV-2.



Fonte: Adaptada de HARTENIAN *et al*, 2020.

Legenda: (1) Ocorre a ligação da proteína S presente na superfície viral com o receptor da enzima Conversora de Angiotensina 2 (ACE2) localizado na membrana plasmática da célula alvo, permitindo a adesão do vírus, mas para que o vírus possa entrar na célula é necessário a ativação da proteína S pela Protease Transmembranar Serina 2 (TMPRSS2), que irá clivar esta proteína permitindo assim a entrada do vírus na célula por endocitose. (2) Por ser um vírus de RNA simples sentido positivo, ele pode ser imediatamente traduzido nos ribossomos da célula hospedeira. (3) As ORF1a e ORF2 são traduzidos, produzindo duas poliproteínas, a pp1a e pp1b, que são clivadas por proteases do complexo replicase-transcritptase (RTC), durante a replicação, produz cópias de RNA negativo do genoma. (5) O RNA negativo é usado como modelo para genoma de RNA positivo, durante a transcrição, um conjunto de RNAs subgenomicos é produzido em forma de transcrição descontínua. (6) As outras ORFs produzirá as proteínas estruturais N, M, E e S. (7) A formação dos vírions maduros ocorre a interação com as proteínas S, E e M na formação da partícula completa no compartimento intermediário retículo endoplasmático de Golgi. (8) Concluída a montagem e aquisição do envelope viral, os vírus se acumulam em vesículas e concluem a maturação. (9) Os vírus são transportados através de vesículas para a superfície celular, sendo liberados por exocitose.

A descoberta do ciclo viral é de suma importância para área da pesquisa e desenvolvimento biotecnológico, este conhecimento contribuirá no desenvolvimento de terapias com antivirais específicos, que possam atuar inibindo alguma etapa do ciclo de replicação do SARS-CoV-2, reduzindo ou suprimindo a disseminação viral no indivíduo infectados, além de colaborar na descoberta de desenvolvimento de vacinas para a prevenção dessa infecção.

2. 2 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA COVID-19

O teste padrão ouro, segundo a OMS (Organização Mundial de Saúde), é o RT-PCR (Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase), um método de elevada especificidade que tem como objetivo detectar cópias do genoma RNA do SARS-CoV-2 em amostras do trato respiratório (Swab de nasofaringe e de orofaringe) de casos suspeitos de COVID-19. É importante destacar que o RT-PCR quando realizado em um sistema fechado seguindo as normas de biossegurança, reduzindo-se o risco de contaminação, apresenta menor probabilidade de apresentar resultados falsos positivos. Esse método está indicado para diagnóstico precoce da COVID-19, apresentando maior sensibilidade em amostras coletadas nos primeiros dias de sintomas. É importante ressaltar que o teste de RT-PCR positivo (detectável) em amostras de pacientes sintomáticos, com suspeita de COVID-19, tem alta associação com elevado risco de transmissão viral. Um alerta importante é que o RT-PCR pode apresentar resultados falsos negativos no 1º ou 2º dia de sintomas, pois existe uma janela molecular, que depende de um número mínimo de cópias virais para apresentar resultado detectável. Também é importante ressaltar que o RT-PCR detecta apenas o genoma viral e não indica viabilidade viral, ou seja, vírus inativados e resíduos de RNA viral também podem ser detectados. Devido ao exposto, alguns pacientes podem apresentar RT-PCR detectável (positivo) em uma fase recuperada da doença e isso não significar vírus viável, pois vírus defectivos, presentes nas secreções respiratórias, podem resultar em teste de RT-PCR positivo (detectável), porém esse achado laboratorial é um evento raro. Em geral, um paciente recuperado deve apresentar resultado de RT-PCR negativo (não detectável) (NANDINI, SUNDARARAJ e AKIHIDE, 2020. OLIVEIRA *et al*, 2020. MATHURIA *et al*, 2020).

Os testes sorológicos podem ser realizados com diferentes metodologias, testes rápidos, Elisa, Quimioluminescência, Imunofluorescência, tem como objetivo pesquisar a presença de anticorpos produzidos na resposta imune específica contra o SARS-CoV-2. A detecção sorológica, confirma exposição ao SARS-CoV-2, mediante detecção de anticorpos das classes IgM, IgG ou IgA. Anticorpos IgM são marcadores de infecção recente, fase precoce da infecção, podendo o paciente positivo estar na fase aguda e replicativa, na fase de convalescência ou recuperado, pois o tempo de detecção do IgM pode ocorrer entre a 3ª e 4ª semana e após a 5ª semana começa a diminuir seus níveis no organismo, quase desaparecendo na 7ª semana. Anticorpos da classe IgG são marcadores de infecção passada, anticorpos de memória, relacionados a imunidade, presente nos pacientes recuperados, podendo permanecer por longos períodos ou até por toda vida, mas no caso da COVID-19, esse período ainda não foi

[Revista Fontes Documentais. Aracaju. v. 03, Edição Especial: MEDINFOR VINTE VINTE, p. 127-140, 2020 – ISSN 2595-9778](#)

determinado, o tempo de detecção do IgG é aproximadamente até o 14º dia da infecção variando do 10º ao 18º dia. Anticorpos da classe IgA são os mais abundantes nas superfícies mucosas, atuam na imunidade protetora, neutralizando toxinas e vírus nos tratos respiratório e gastrointestinal, são detectáveis após 1º dia dos sintomas, possuem uma especificidade menor quando comparada aos testes que utilizam IgG. A maioria dos testes sorológicos, disponíveis no mercado para diagnóstico da COVID-19, recomendam a execução desses testes a partir do 8º dia de sintomas, sendo que alguns fabricantes recomendam a partir do 10º dia de sintomas. O resultado do teste rápido leva em torno de 15 minutos para ser feito e são muito utilizados para diagnóstico em larga escala, por ser prático, rápido e de fácil manuseio, apresenta sensibilidade nos resultados, identificando assim os casos suspeitos, ideal para inquéritos epidemiológicos (OLIVEIRA *et al*, 2020. D'CRUZ, CURRIER e SAMPSON, 2020. THEEL *et al*, 2020).

Através do estudo da cinética temporal da resposta imune humoral, a combinação do teste de detecção de anticorpos da Classe IgM (IgM Anti-SARS-CoV-2) com a detecção molecular por PCRq (PCR quantitativo) melhorou significativamente o diagnóstico de COVID-19 na fase aguda da infecção. A taxa de detecção por RT-PCR é maior que a detecção de anticorpos por IgM ELISA antes de 5,5 dias de sintomas, já a eficiência de detecção por IgM ELISA foi maior que o método de RT-PCR após 5,5 dias do início dos sintomas. Esses dados, revelam que a associação do RT-PCR com a realização de teste sorológico para pesquisa de IgM na fase aguda da infecção, são ferramentas importantes para aumentar a segurança no diagnóstico laboratorial em pacientes com suspeita da COVID-19 (GUO *et al*, 2020).

Para análise dos resultados dos testes moleculares (RT-PCR) e sorológicos (Detecção de anticorpos específicos) foi criada uma tabela informativa (tabela 1), onde foi possível discutir e relacionar os resultados desses exames e o risco de transmissão viral. Nos primeiros dias de sintomas e ou suspeita de infecção pelo SARS-CoV-2, os testes laboratoriais mais indicados são os moleculares, com o objetivo de detectar o RNA viral por RT-PCR. Nesse caso, um resultado negativo de RT-PCR, pode ser interpretado como negativo, ou seja, paciente não está infectado ou então ainda não possui carga viral suficientes para ser detectado por RT-PCR. É válido ressaltar que o teste molecular tem uma maior sensibilidade a partir do 3º dia de sintomas. Os resultados de RT-PCR detectável possuem uma alta correlação com risco de transmissão da infecção viral. Quando o indivíduo já está entrando na segunda semana de sintomas, já é possível a detecção dos anticorpos da classe IgM pelos testes sorológicos, já os anticorpos da classe IgG só é possível a detecção a partir 10º dia de sintomas. Os indivíduos infectados

[Revista Fontes Documentais. Aracaju. v. 03, Edição Especial: MEDINFOR VINTE VINTE, p. 127-140, 2020 – ISSN 2595-9778](#)

possuem, em geral, risco de transmissão até o 14º dia da infecção. No período de soroconversão, quando o paciente possui tanto IgM quanto IgG detectável, ainda poderá haver risco de transmissão viral. O risco de transmissão é reduzido ou nulo quando mediante a realização dos testes, a sorologia apresenta IgM-anti-SARS-CoV-2 não reagente e carga viral por RT-PCR indetectável no organismo, sendo reagente apenas o teste de IgG-anti-SARS-CoV-2, que é um marcador de memória imunológica (YOUNES, 2020. NANDINI, SUNDARARAJ e AKIHIDE, 2020).

Tabela 1: Interpretação dos Testes de Diagnóstico.

| Diagnóstico Laboratorial (Casos Suspeitos de COVID-19) | Interpretação dos Resultados | Risco de Transmissão |
|---|--|-----------------------------|
| RT-PCR (-) / IgM (-) / IgG (-) | Teste Negativo (paciente não infectado) ou PCR falso-negativo (Janela molecular) | Inexistente ou Baixo |
| RT-PCR (+) / IgM (-) / IgG (-) | Janela Imunológica, fase aguda da infecção, replicação viral em alta atividade | Presente |
| RT-PCR (+) / IgM (+) / IgG (-) | Fase aguda da infecção, com janela imunológica para IgG | Presente |
| RT-PCR (+) / IgM (+) / IgG (+) | Fase aguda ou fase de convalescência. | Presente |
| RT-PCR (+) / IgM (-) / IgG (+) | Fase de convalescência ou falso negativo para IgM | Presente |
| RT-PCR (-) / IgM (+) / IgG (+) | Fase de convalescência | Duvidoso |
| RT-PCR (-) / IgM (-) / IgG (+) | Recuperação (“curado”), o IgG deve permanecer detectável por período ainda não determinado (Marcador de exposição) | Ausente |

Fonte: Elaborado pelo autor.

Legenda: RT-PCR (Reação em Cadeia da Polimerase usando Transcriptase Reversa em Tempo Real qualitativo ou quantitativo), sendo o símbolo (-) carga viral não detectável e o (+) carga viral detectável. IgM (-) (Testes não reagente para detecção de anticorpos IgM-Anti-SARS-CoV-2). IgM (+) (Testes reagente para detecção de anticorpos IgM-Anti-SARS-CoV-2). IgG (-) (Testes não reagente para detecção de anticorpos IgG-Anti-SARS-CoV-2). IgG (+) (Testes reagente para detecção de anticorpos IgG-Anti-SARS-CoV-2).

A interpretação dos testes moleculares e sorológicos são de fundamental importância para estabelecer um diagnóstico laboratorial de confiança da COVID-19 (MATHURIA *et al*, 2020). Apesar do RT-PCR ser o padrão ouro segundo a OMS, existem limitações, pois um teste positivo está diretamente relacionado com a carga viral do paciente, sendo indicado coleta de amostras respiratórias até o sétimo dia de sintomas do paciente. A partir do oitavo dia de sintomas a carga viral já pode ser indetectável em grande parte dos indivíduos infectados que evoluíram para a cura. Já nos inquéritos epidemiológicos e estudo de prevalência na população geral, os testes sorológicos têm se mostrados efetivos, assim como para esclarecer casos de exposição passada e provável imunidade.

2.3 METODOLOGIA

O presente trabalho é uma revisão bibliográfica, qualitativa. Os dados foram coletados a partir de busca nos sites *PubMed*, *Scientific Eletronic Library Onlin (SciELO)* e *Science Direct*, no idioma português e inglês, abrangendo o período entre 1965 a 2020 para a realizar a revisão bibliográfica acerca do histórico da família dos Coronavírus, e os períodos entre dezembro de 2019 a 2020 para o estudo do ciclo replicativo e avaliação dos métodos Laboratoriais para diagnóstico da infecção pelo SARS-CoV-2. Utilizou-se as palavras chaves no inglês: SARS-CoV-2, COVID 19, *new Coronavirus*, *Coronavirus diagnostic methods* e *serological tests*, *Coronavirus history and origin*, *Coronavirus diagnostic methods*, *RT-PCR for Coronavirus*, *Coronavirus replication*, *SARS-CoV-2 viral cycle* e no português: SARS-CoV-2, Coronavírus, novo Coronavírus, COVID-19, métodos de diagnóstico Coronavírus, testes sorológicos, história e origem do Coronavírus, ciclo viral do SARS-CoV-2, replicação do novo Coronavírus. Foram produzidas tabelas comparando os testes laboratoriais e utilizou-se imagem para ilustrar o ciclo de replicação. Para os critérios de inclusão foram selecionados artigos completos, de acesso livre, que contenham informação científica publicada em revistas indexadas, com credibilidade científica. Como critérios de exclusão, artigos publicados em revistas não indexadas, e que não apresentaram credibilidade científica.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O isolamento e identificação do novo Coronavírus, assim como o sequenciamento genômico, foram de muita relevância para o conhecimento da biologia do vírus e de sua estrutura, o entendimento do ciclo replicativo permitiu estudos em busca de drogas efetivas que possam inibir o ciclo de replicação viral e também o avanço de estudo para o desenvolvimento de vacinas. Foi demonstrado que o padrão ouro para o diagnóstico é o RT-PCR, em que se utiliza amostras de SWAB da orofaringe e nasofaringe para detecção do genoma viral, os testes sorológicos detectam anticorpos da classe IgG e IgM, alguns da classe IgA, possuem um papel importante para inquéritos epidemiológicos ou como forma de ferramenta complementar no diagnóstico da COVID-19. Importante ressaltar que vários estudos revelam diferentes sensibilidade e especificidade desses métodos sorológicos e que os testes sorológicos não podem substituir o teste molecular. São necessários novos estudos para o desenvolvimento de novos métodos de diagnósticos com uma maior sensibilidade e especificidade a fim de melhorar a detecção na fase aguda da infecção.

REFERÊNCIAS

ALANAGREH, Lo’Ai; ALZOUGHOL, Foad; ATOUM, Manar. The human coronavirus disease covid-19: Its origin, characteristics, and insights into potential drugs and its mechanisms. **Pathogens**, v. 9, n. 5, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/pathogens9050331>>.

AL-OSAIL, Aisha M.; AL-WAZZAH, Marwan J. The history and epidemiology of Middle East respiratory syndrome corona virus. **Multidisciplinary Respiratory Medicine**, v. 12, n. 1, p. 1–6, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s40248-017-0101-8>>.

ANAND, KB; KARADE, S.; SEM, S. SARS-CoV-2: Camazotz's Curse. **Medical Journal Armed Forces India**. v. 76, n. 2, p. 136-141, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mjafi.2020.04.008>>.

BURKI, Talha. The origin of SARS-CoV-2. **The Lancet**, v. 20, n. 9, p. 1018 - 1019, 2020. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(20\)30641-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(20)30641-1)>.

CUI, Jie; LI, Fang; SHI, Zheng Li. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. **Nature Reviews Microbiology**, v. 17, n. 3, p. 181–192, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>>.

D’CRUZ, Roshan J.; CURRIER, Arthur W.; SAMPSON, Valerie B. Laboratory Testing Methods for Novel Severe Acute Respiratory Syndrome-Coronavirus-2 (SARS-CoV-2). **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 8, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fcell.2020.00468>>.

DA COSTA, Vivaldo Gomes; MORELI, Marcos Lázaro; SAIVISH, Marielena Vogel. The emergence of SARS, MERS and novel SARS-2 coronaviruses in the 21st century. **Archives of Virology**, v. 165, n. 7, p. 1517–1526, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00705-020-04628-0>.

DIJKMAN, Ronald; VAN DER HOEK, Lia. Human coronaviruses 229E and NL63: Close yet still so far. **Journal of the Formosan Medical Association**, v. 108, n. 4, p. 270–279, 2009. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0929-6646\(09\)60066-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0929-6646(09)60066-8).

FERH, Anthony R.; PERLMAN, Stanley. Coronaviruses: An Overview of Their Replication and Pathogenesis. **Springer**, v. 1282, 2015. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2438-7_1.

GUO, Li; et al. Profiling Early Humoral Response to Diagnose Novel Coronavirus Disease (COVID-19). **Clinical Infectious Diseases**, v. 71, n. 15, p. 778–785, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/cid/cia310>.

HARTENIAN, Ella; *et al.* The molecular virology of coronaviruses. **Journal of Biological Chemistry**, v. 295, n. 37, p. 12910–12934, 2020. Disponível em: <http://doi.org/10.1074/jbc.REV120.013930>.

HOFFMANN, Markus; *et al.* SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. **Cell**, v. 181, n. 2, p. 271 – 280, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.052>.

ISER, Betine et al. Suspected COVID-19 case definition: a narrative review of the most frequent signs and symptoms among confirmed cases. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 29, n. 3, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5123/s1679-49742020000300018>.

KAHN, Jeffrey S.; MCINTOSH, Kenneth. History and Recent Advances in Coronavirus Discovery. **Pediatric Infectious Disease Journal**, v. 24, n. 11, p. 223–227, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.inf.0000188166.17324.60>.

LI, Fang. Receptor Recognition Mechanisms of Coronaviruses: a Decade of Structural Studies. **ASM Journals**, v. 89, n. 4, p. 1954 - 1964, 2014. Disponível em: <https://doi.org/doi:10.1128/JVI.02615-14>.

LIU, Ping; *et al.* Are pangolins the intermediate host of the 2019 novel coronavirus (SARS-CoV-2)? **PLOS PATHOGENS**, v. 16, n. 5, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008421>.

MATHURIA, Jitendra; *et al.* Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 - A review of current methods. **Journal of Infection and Public Health**, v. 13, n. 7, p. 901-905, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2020.06.005>.

NANDINI, Sethuraman; SUNDARARAJ, Jeremiah; AKIHIDE, Ryo. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. **JAMA**, v. 323, n. 22, p. 2249 – 2251, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2020.8259>.

OLIVEIRA, Beatriz Araujo; *et al.* SARS-CoV-2 and the COVID-19 disease: a mini review on diagnostic methods. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 62, n. e44, 2020. Disponível em <http://doi.org/10.1590/S1678-9946202062044>.

SANTOS, Norma S. O.; ROMANOS, Maria T. V.; WIGG, Marcia D. *Virologia Humana*. Terceira edição. Rio de Janeiro: Editora GUANABARA KOOGAN LTDA, 2015. Pg. 721 - 729.

SCHOEMAN, Dewald; FIELDING, Burtram. Coronavirus envelope protein: current knowledge. **Virology Journal**, v. 16, n. 69, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12985-019-1182-0>

SINGHAL, Tanu. A Review of Coronavirus Disease-2019 (COVID-19). **Indian Journal of Pediatrics**, v. 87, n. 4, p. 283, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12098-020-03263-6>.

THEEL, Elitza; *et al.* The Role of Antibody Testing for SARS-CoV-2: Is There One?. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 58, n. 8, 2020. Disponível em: <http://doi.org/10.1128/JCM.00797-20>

TYRRELL, D. A. J; BYNOE, M. L. Cultivation of a Novel Type of Common-cold Virus in Organ Cultures. **British Medical Journal**, v. 1, n. 5448, p. 1467 - 1470, 1965. Disponível em: <http://doi.org/10.1136/bmj.1.5448.1467>.

UJIKE, Makoto; TAGUCHI, Fumuhiro. Incorporation of Spike and Membrane Glycoproteins into Coronavirus Virions. **Viruses**, v. 7, n. 4, p. 1700 – 1725, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v7041700>.

WILDE, Adriaan; *et al.* Host Factors in Coronavirus Replication. **Springer**, v. 419, p. 1 – 42, 2017. Disponível em: http://doi.org/10.1007/82_2017_25.

YOUNES, Nadin; *et al.* Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. **Novel Concepts in Virology**, v. 12, n. 6, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/v12060582>.

| |
|--|
| Recebido/ Received: 18/08/2020 Aceito/ Accepted: 09/09/2020 Publicado/ Published: 25/10/2020 |
|--|