

Artigo de Revisão de Literatura

Origem e diagnóstico do SARS-CoV-2

Origin and diagnosis of SARS-CoV-2

Marta Aires de Sousa ^{1*}

¹ Escola Superior de Saúde da Cruz Vermelha Portuguesa, Área de Ensino de Cardiopneumologia, 1350-125, Lisboa, msousa@esscvp.eu

A doença COVID-19 caracteriza-se por uma síndrome respiratória aguda grave (SARS), tendo surgido pela primeira vez na China, em dezembro de 2019, associada a um grande mercado de peixe em Wuhan. A doença é causada por um novo Coronavírus (CoV), designado SARS-CoV-2 pela semelhança com o SARS-CoV que foi responsável por um surto de SARS em 2002-2004 na China. A análise filogenética de genomas completos mostrou que o SARS-CoV-2 pode ter origem num CoV do morcego (96% de identidade genética). Sem uma vacina nem medicamentos antivirais específicos para a COVID-19, a deteção precoce e fiável do novo Coronavírus é fundamental. Nesta revisão, apresentamos os métodos de diagnóstico atuais para o SARS-CoV-2, incluindo manifestações clínicas, imagem torácica e deteção laboratorial, discutindo as respetivas vantagens e limitações.

Coronavirus disease 2019 (COVID-19), which causes a severe acute respiratory syndrome (SARS), first emerged in China, in December 2019, associated with a large seafood market in Wuhan. The disease is caused by a new Coronavirus (CoV), named SARS-CoV-2 for its similarity with SARS-CoV that was responsible for a SARS outbreak in 2002-2004 in China. Phylogenetic analysis of full-length genome sequences showed that SARS-CoV-2 might have evolved from a bat CoV (96% genetic identity). Without a vaccine nor specific antiviral drugs for COVID-19, early and accurate detection of the novel Coronavirus is crucial. In this review, we present current diagnostic methods for the SARS-CoV-2, including clinical manifestations, chest imaging and laboratory detection, and we discuss the respective advantages and limitations.

PALAVRAS-CHAVE: SARS-CoV-2; COVID-19; origem; diagnóstico.

KEY WORDS: SARS-CoV-2; COVID-19; origin; diagnosis.

Submetido em 19.04.2020; Aceite em 28.04.2020; Publicado em 30.04.2020.

* **Correspondência:** Marta Aires de Sousa.

Morada: Av. de Ceuta, Ed Urbiceuta,1350-125, Lisboa. **Email:** msousa@esscvp.eu

INTRODUÇÃO

Os coronavírus (CoV) são vírus de RNA em cadeia simples que pertencem à família *Coronaviridae* e à subfamília *Coronavirinae*¹.

Os CoV causam principalmente infeções respiratórias e do trato gastrointestinal e são divididos em quatro géneros principais: *AlfaCoronavirus*, *BetaCoronavirus*, *GamaCoronavirus* e *DeltaCoronavirus*². Os dois primeiros géneros infetam principalmente mamíferos, enquanto que os dois últimos infetam sobretudo aves³. Até à data, foram identificados seis tipos de CoV humanos (Tabela 1)⁴: o HCoV-NL63 e o HCoV-229E, pertencentes ao género *AlfaCoronavirus*, e o HCoV-OC43, o HCoV-HKU1, o CoV da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e o CoV da síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV), que pertencem ao género *BetaCoronavirus*.

No entanto, dada a elevada prevalência e ampla distribuição de CoV em animais, a grande diversidade genética e recombinação frequente dos seus genomas, assim como o aumento do contacto homem-animal, é de esperar que novos CoV possam surgir periodicamente em humanos⁵.

Pela terceira vez em muitos anos, um CoV zoonótico cruzou espécies para infetar populações humanas. Em 2003, um CoV designado de SARS-CoV foi identificado como responsável pelo surto da síndrome respiratória aguda grave (SARS), iniciado na China. Uma década mais tarde, em 2012, foi identificado o MERS-CoV como causa da síndrome respiratória do Médio Oriente⁶. Em Dezembro 2019, surgiram na China vários casos de doentes com pneumonia com etiologia desconhecida⁷, todos com ligação a um mercado de peixe na cidade de Wuhan, na província de Hubei, onde vários animais exóticos são vendidos vivos. O vírus responsável pela doença foi entretanto confirmado, após sequenciação completa do genoma, como um novo CoV.

Os primeiros investigadores chineses nomearam este novo CoV como CoV Wuhan ou CoV 2019 (2019-nCov). Em Fevereiro de 2020, o Comité Internacional de Taxonomia de Vírus (*International Committee on Taxonomy of Virus*) verificou que o novo CoV estava relacionado com o vírus da SARS (SARS-CoV) de 2003 e nomeou-o como SARS-CoV-2⁸. Por outro lado, a Organização Mundial da Saúde designou a doença causada pelo SARS-CoV-2 de *Corona Virus Disease 2019* (COVID-19)⁹.

ORIGEM DO SARS-CoV-2

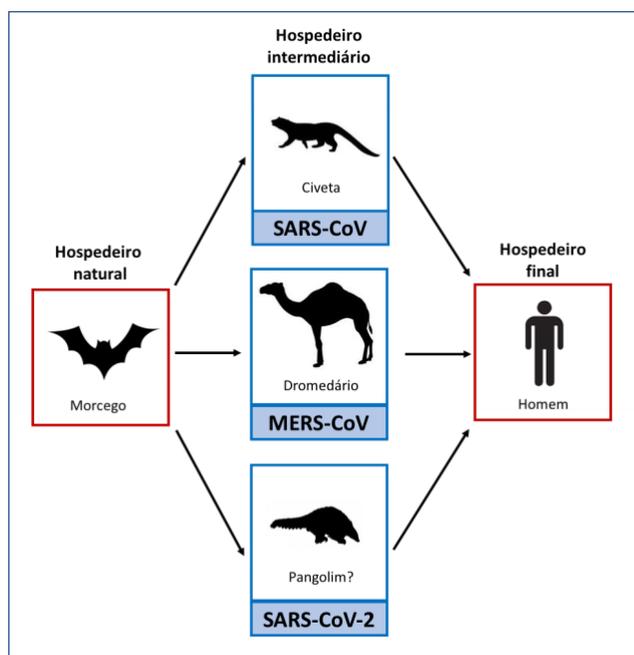
Vinte sete dos primeiros 41 indivíduos que contraíram a COVID-19 tiveram ligação com o mercado de peixe de Huanan em Wuhan¹⁰. Assim, colocou-se a hipótese do novo CoV ter tido origem neste mercado, tendo sido transferido de animais para humanos durante o transporte, abate ou comércio de animais selvagens.

Os morcegos são colonizados por uma grande variedade de CoV e são considerados os hospedeiros de muitos tipos de CoV, como o SARS-CoV e o MERS-CoV¹¹. É muito provável que o SARS-CoV tenha sido transmitido de morcegos para o mamífero civeta e o MERS-CoV de morcegos para dromedários e, posteriormente, transmitidos para seres humanos^{12,13}.

Resultados de sequenciação mostraram que o SARS-CoV-2 partilha uma identidade genética de 80% com o SARS-CoV e 52% de identidade com o MERS-CoV. Curiosamente, a semelhança genética é superior com um CoV detetado em morcegos (96% de homologia com o genoma Bat CoV RaTG13)^{14,15}. No entanto, a zona da proteína (Spike) do Bat CoV RaTG13 que liga ao recetor (ACE2) das células humanas tem importantes diferenças com a do SARS-CoV-2. Por outro lado, verificou-se que os genomas de CoV do pangolim têm entre 85,5% e 92,4% de semelhança com o genoma do SARS-CoV-2, e a zona da proteína

Spike que liga ao recetor ACE2 é muito mais parecida com a do SARS-CoV-2. Estes dados sugerem que o SARS-CoV-2 tenha tido origem no CoV do morcego, tendo passado por um possível hospedeiro intermediário como o pangolim^{15,16} (Figura 1).

Figura 1 – Hospedeiros de diferentes HCoV.



DIAGNÓSTICO

Sem uma vacina nem medicamentos antivirais específicos para a COVID-19, a deteção precoce e fiável do novo CoV é fundamental. Atualmente, o diagnóstico do SARS-CoV-2/ COVID-19 é principalmente baseado nas manifestações clínicas, na imagem torácica e na deteção laboratorial.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Os sintomas mais comuns nos pacientes confirmados com COVID-19 são febre, tosse e mialgia ou fadiga, enquanto a produção de expetoração, dor de cabeça, diarreia e vômito são menos frequentes^{17,18}.

A COVID-19 é classificada com base na gravidade dos sintomas como: assintomática, leve, moderada, grave e crítica¹⁷⁻¹⁹.

1. Na infeção assintomática, não há qualquer sintoma clínico.
2. Na forma leve, os indivíduos apresentam infeção aguda do trato respiratório superior, incluindo febre, fadiga, mialgia, tosse, dor de garganta, e corrimento nasal.
3. Nas formas moderadas, os doentes apresentam pneumonia, febre e tosse, e a imagem torácica mostra lesões pulmonares subclínicas.
4. Doentes com um quadro clínico grave apresentam dispneia (frequência respiratória >30 vezes/min), saturação de oxigénio <92% acompanhada de outras manifestações de hipoxia.
5. Doentes críticos progridem rapidamente para um quadro de insuficiência respiratória, choque séptico, insuficiência cardíaca, disfunção da coagulação, lesão renal aguda e insuficiência multiorgânica.

Vários estudos indicam que as crianças apresentam na generalidade manifestações clínicas menos severas, têm um melhor prognóstico e são raros os casos de morte²⁰. Pelo contrário, a mortalidade da doença é significativamente mais elevada em pacientes idosos e em indivíduos com doenças crónicas, incluindo diabetes, hipertensão, doença pulmonar obstrutiva crónica e doenças cardiovasculares²¹.

IMAGEM TORÁCICA

A maioria dos doentes graves com COVID-19 pode ser diagnosticada por radiografia do tórax e tomografia computadorizada (TC).

Em Portugal, o Colégio de Especialidade de Radiologia da Ordem dos Médicos recomenda a radiografia do tórax como exame imagiológico de primeira linha em caso suspeito ou confirmado de COVID-19²². Apesar de apresentar uma baixa sensibilidade no início da infeção, o RX permite identificar a presença de consolidação, evidenciando um processo de pneumonia, que é considerado critério de gravidade da doença.

Na TC, os padrões mais frequentemente observados no início da doença são o padrão de vidro despolido, predominantemente bilateral e em localização periférica e posterior, atingindo sobretudo os lobos inferiores. Com a evolução da doença podem surgir espessamentos septais, padrão “em mosaico” e consolidação periférica e, em formas mais graves bronquiectasias de tração²³.

A co-infecção com outros vírus (influenza A/B, rhino/enterovírus, vírus sincicial respiratório), fungos ou bactérias, foi diagnosticada em doentes com COVID-19 o que pode dificultar o diagnóstico por imagens de TC do tórax²⁴.

DETEÇÃO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial de SARS-CoV-2 pode ser realizado por detecção do material genético do vírus, testes sorológicos, ou cultura e isolamento de partículas virais viáveis.

Deteção do material genético

Atualmente, o diagnóstico da COVID-19 é feito principalmente por amplificação de ácidos nucleicos do SARS-CoV-2 pelo método de *reverse transcription-polymerase chain reaction* (RT-PCR) em tempo real²³. Este método deteta o RNA viral a partir de amostras de zaragatoa nasal ou faríngea, expetoração, aspirado traqueal, lavado bronco-alveolar, sangue, fezes, sendo que o trato respiratório inferior contém uma carga viral maior do que o trato respiratório superior²⁵.

Apesar de ser à data considerada como a metodologia “gold standard”, o RT-PCR pode produzir falsos negativos em indivíduos com manifestações clínicas e imagem torácica confirmadas²⁶. Existem várias possíveis explicações para estes resultados negativos:

(i) Carga viral no trato respiratório superior insuficiente. Um estudo que analisou 4880 casos de COVID-19 num hospital Chinês, evidenciou que enquanto a detecção de SARS-CoV-2 foi de 100% em amostras de lavados alveolares, a detecção a partir de amostras de zaragatoas nasais ou

faríngeas (amostra atualmente mais utilizada) foi de apenas 38%, o que se explica pelo facto de a doença ter origem nas células alveolares e não no trato respiratório superior²⁷.

- (ii) Doentes numa fase precoce da doença ou com uma forma leve podem ter uma carga viral baixa nas zaragatoas nasais e faríngeas, resultando em falsos-negativos²⁸.
- (iii) A carga viral parece aumentar com a idade, sendo bastante mais baixa em crianças, que na maioria dos casos têm formas leves da doença²⁰.
- (iv) O SARS-CoV-2 é um vírus de RNA com fraca estabilidade, que pode ser eventualmente degradado por RNAses libertadas após destruição celular, afetando a eficiência da detecção final²⁹.

Testes serológicos

Os testes serológicos baseiam-se na detecção de anticorpos das classes IgM (revela exposição recente) e IgG (exposição anterior). Geralmente, os anticorpos IgM aumentam alguns dias após uma infeção viral (3 a 6 dias no caso da SARS de 2003) e podem ser detetados no início da incubação, enquanto os anticorpos IgG aparecem nos estadios médio e tardio da infeção (8 dias no caso da SARS)³⁰. Durante a infeção há um aumento contínuo do nível de anticorpos, que permanece na circulação sanguínea por um longo período de tempo. Os testes serológicos podem ser úteis na investigação de potenciais surtos e em estudos epidemiológicos populacionais. A reação cruzada com outros coronavírus pode sempre existir.

Os testes serológicos, além de poderem ser uma alternativa para doentes com alta suspeita clínica da infeção por SARS-CoV-2 mas com resultados negativos por RT-PCR, têm ainda a vantagem de poderem determinar se um indivíduo foi infetado recentemente ou há mais tempo, não havendo no entanto ainda dados que comprovem a imunidade à doença³⁰.

No entanto, os testes serológicos podem também não detetar todos os infetados: (i) o método mostrou ter uma sensibilidade de apenas 70% em doentes com COVID-19 com internamento de 4-6 dias, e (ii) a

deteção de anticorpos IgM e IgG pode ser inútil em idosos, devido à reduzida capacidade de produção de anticorpos²⁹.

Cultura de partículas virais

O isolamento de SARS-CoV-2 em culturas celulares necessita de laboratórios com nível 3 de biossegurança pelo que não é realizado habitualmente para fins de diagnóstico e é usado apenas para investigação científica.

Testes bioquímicos

O exame laboratorial de pacientes em fase inicial da doença revelou leucopenia, linfopenia, e níveis elevados de aspartato aminotransferase, proteína C-reativa (PCR) e taxa de sedimentação de eritrócitos¹⁰. A maioria dos pacientes apresentava níveis séricos normais de procalcitonina. Comparados aos casos moderados, os casos graves apresentaram linfopenia com maior nível de alanina aminotransferase, lactato desidrogenase, PCR, ferritina e dímero D, além de níveis consideravelmente mais altos de interleucinas (IL)-2R, IL-6, IL-10 e do fator de necrose tumoral (TNF)- α ¹⁷.

Em crianças observou-se principalmente um aumento da creatina quinase MB, diminuição de linfócitos, leucopenia e procalcitonina elevada¹⁸.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Existem vários métodos de diagnóstico para o SARS-CoV-2/ COVID-19, sendo que todos apresentam limitações. A combinação de vários tipos de teste, assim como a repetição dos mesmos ao longo do período de infecção e recuperação, podem aumentar a sensibilidade de deteção. No entanto, o desenvolvimento de métodos mais sensíveis é fundamental de forma a facilitar o diagnóstico correto da COVID-19.

REFERÊNCIAS

1. Weiss SR, Leibowitz JL. Coronavirus pathogenesis. *Adv Virus Res.* 2011; 81:85-164.
2. Zumla A, Chan JFW, Azhar EI, Hui DSC, Yuen K-Y. Coronaviruses – drug discovery and therapeutic options. *Nat Rev Drug Discov.* 2016; 15:327-347.
3. Tang Q, Song Y, Shi M, Cheng Y, Zhang W, Xia XQ. Inferring the hosts of coronaviruses using dual statistical models based on nucleotide composition. *Sci Rep.* 2015; 5:17155.
4. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections - the state of the art. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9:747-756.
5. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 2020; 382:727-733.
6. Rahman A, Sarkar A. Risk factors for fatal Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Infections in Saudi Arabia: Analysis of the WHO line list, 2013-2018. *Am J Public Health.* 2019; 109:1288-1293.
7. H. Lu, C. W. Stratton, Y.-W. Tang, Outbreak of pneumonia of unknown etiology in Wuhan, China: The mystery and the miracle. *J Med Virol.* 2020; 92:401-402.
8. Lai CC, Shih TP, Ko WC, Tang HJ, Hsueh PR. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and corona virus disease-2019 (COVID-19): the epidemic and the challenges. *Int J Antimicrobial Agents.* 2020; 105924.
9. World Health Organization [WHO]. Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance, 19 March 2020. 2020 [citada 2020 04 18]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331501>.
10. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395:497-506.
11. Cui J, Li F, Shi ZL. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2019; 17:181-192.
12. Guan Y, Zheng BJ, He YQ, et al. Isolation and characterization of viruses related to the SARS coronavirus from animals in southern China. *Science.* 2003; 302:276-278.
13. Drosten C, Kellam P, Memish ZA. Evidence for camel-to-human transmission of MERS coronavirus. *N Engl J Med.* 2014; 371:1359-1360.

14. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*. 2020; 579:270-273.
15. Lam TT, Shum MH, Zhu HC, et al. Identifying SARS-CoV-2 related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature*. 2020; 10.1038/s41586-020-2169-0.
16. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI et al. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med*. 2020; 26:450-452.
17. Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunologic features in severe and moderate Coronavirus Disease 2019. *J Clin Invest*. 2020; 137244.
18. Qiu H, Wu J, Hong L, Luo Y, Song Q, Chen D. Clinical and epidemiological features of 36 children with coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Zhejiang, China: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2020; S1473-3099(20)30198-5.
19. Chen N, Zhou M, Dong X, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study. *Lancet*. 2020; 395:507-513.
20. Ludvigsson JF. Systematic review of COVID-19 in children shows milder cases and a better prognosis than adults. *Acta Paediatr*. 2020; 10.1111/apa.15270.
21. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020; 395:1054-1062.
22. Ordem dos Médicos. Uso de meios complementares de diagnóstico imagiológicos em contexto de COVID-19, 20 Março 2020. 2020 [citada 2020 04 19]. Disponível em: <https://ordemosmedicos.pt/uso-de-meios-complementares-de-diagnostico-imagiológicos-em-contexto-de-covid-19/>
23. Bernheim A, Mei X, Huang M, et al. Chest CT findings in coronavirus disease-19 (COVID-19): relationship to duration of infection. *Radiology*. 2020; 200463
24. Dong X, Cao YY, Lu XX, et al. Eleven faces of coronavirus disease 2019 [published online ahead of print, 2020 Mar 20]. *Allergy*. 2020; 10.1111/all.14289.
25. Zhu N, Zhang D, Wang W, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med*. 2020; 382:727-733.
26. Xie X, Zhong Z, Zhao W, Zheng C, Wang F, Liu J. Chest CT for typical 2019-nCoV pneumonia: Relationship to negative RT-PCR testing. *Radiology*. 2020; 200343.
27. Liu R, Han H, Liu F, et al. Positive rate of RT-PCR detection of SARS-CoV-2 infection in 4880 cases from one hospital in Wuhan, China, from Jan to Feb 2020. *Clin Chim Acta*. 2020; 505:172-175.
28. Pan Y, Zhang D, Yang P, Poon LLM, Wang Q. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. *Lancet Infect Dis*. 2020; 20:411-412.
29. Wang H, Li X, Li T, et al. The genetic sequence, origin, and diagnosis of SARS-CoV-2. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2020. In press.
30. Li Z, Yi Y, Luo X, et al. Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. *J Med Virol*. 2020;10.1002/jmv.25727.

Tabela 1 – Características dos diferentes CoV humanos (HCoV).

Vírus	Género	Patologia	Ano da descoberta
HCoV-NL63	Alfa	Infeção moderada do trato respiratório	1965
HCoV-229E	Alfa	Infeção moderada do trato respiratório	1967
HCoV-OC43	Beta	Infeção moderada do trato respiratório	2004
HCoV-HKU1	Beta	Infeção moderada do trato respiratório; pneumonia	2005
SARS-CoV	Beta	Síndrome respiratória aguda grave humana	2003
MERS-CoV	Beta	Síndrome respiratória aguda grave humana	2012
SARS-CoV-2	Beta	Síndrome respiratória aguda grave humana	2019