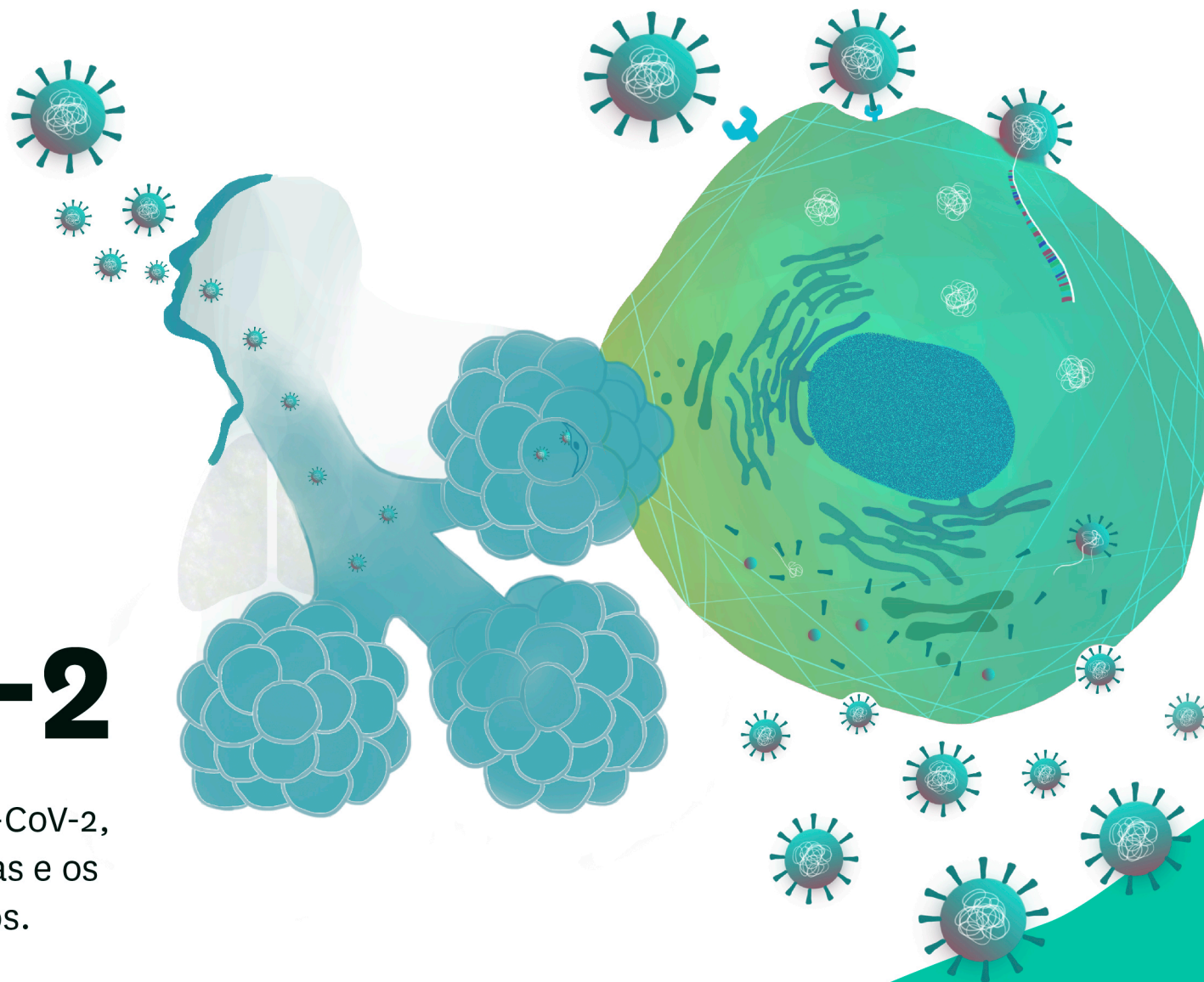


Newsletter | IMM

SARS-CoV-2

Conheça os detalhes sobre o vírus SARS-CoV-2, no que consiste, os tratamentos e vacinas e os testes de diagnóstico e testes serológicos.



SARS-CoV-2

Testes de Diagnóstico e Testes Serológicos

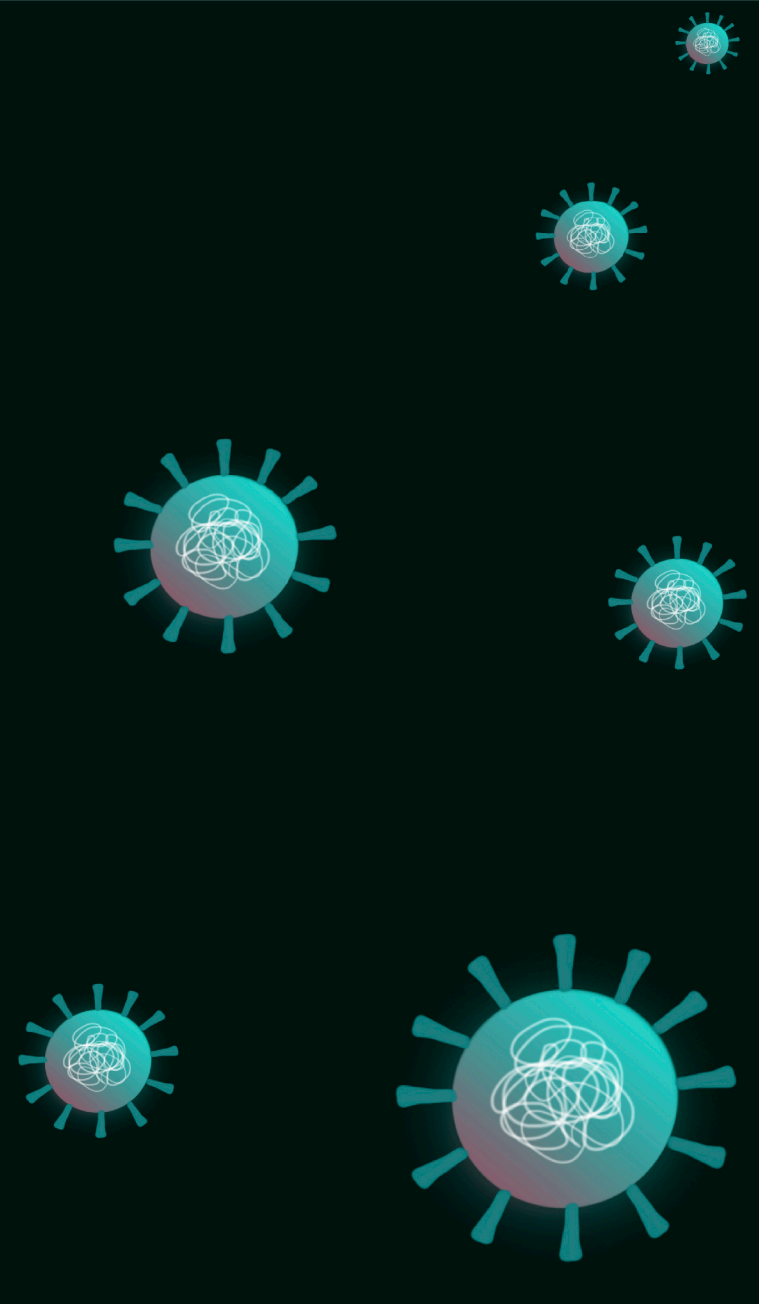


Teste de diagnóstico para SARS-CoV-2 por PCR

Este teste é muito sensível, e consegue detetar se o vírus está presente, mesmo em pessoas sem sintomas de doença.

É o método de referência da DGS para detetar os casos positivos de doença.

O teste é baseado numa tecnologia chamada reação em cadeia da polimerase (PCR) (11).



Teste de diagnóstico para SARS-CoV-2 por PCR

Neste teste, é recolhido com um cotonete muco da parte posterior da garganta e/ou do nariz, os locais onde existe uma grande concentração de vírus.

Através de reagentes químicos, o material genético, a cadeia de RNA, do SARS-CoV-2 é recolhido e depois amplificado pelo método de PCR.

Na presença de viriões, a reação de PCR produzirá um sinal positivo, caso contrário, não haverá sinal.

Este método também permite estimar a concentração de vírus, pois o sinal da reação PCR é diretamente proporcional à concentração de cadeias de RNA. Este método não permite detectar pessoas que tiveram o vírus no passado, mas que, entretanto, recuperaram.



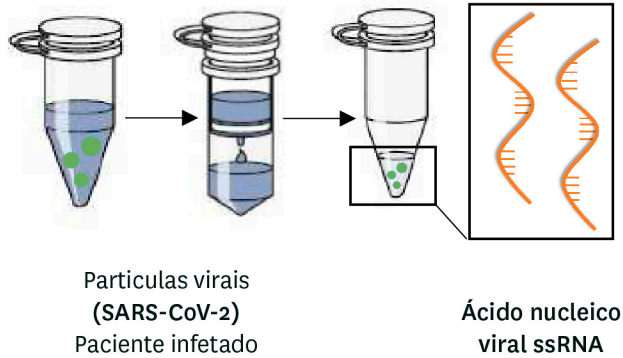
Teste de diagnóstico para SARS-CoV-2 por PCR

O que é?

Resultado Positivo:

1. As amostras são recolhidas do nariz ou garganta usando uma zaragatoa

2. Inativação do vírus e extração de RNA



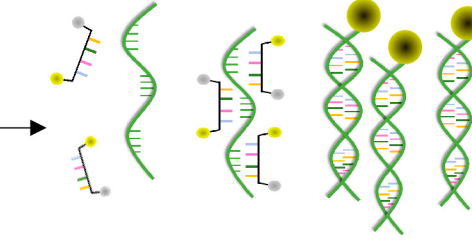
3. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR)

Transcrição reversa que converte o RNA em DNA



cDNA

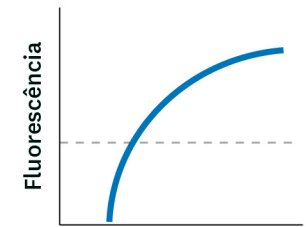
qPCR o processo que amplifica o DNA na amostra



Amplificação de cDNA e detecção viral usando sequências específicas de SARS-CoV-2 acopladas a partículas fluorescentes

Quanto maior for a quantidade de DNA viral na amostra, mais depressa é detetado o sinal de fluorescência

Gráfico esperado

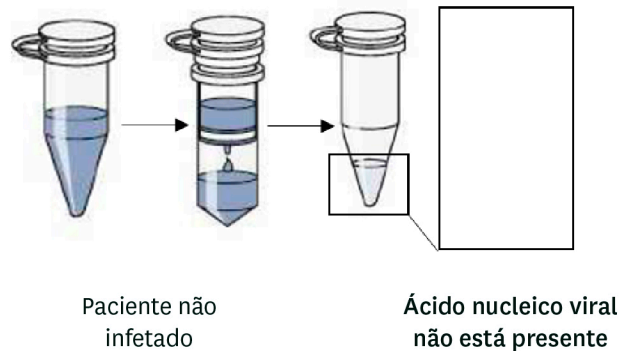


Nº ciclos de amplificação

Resultado Negativo:

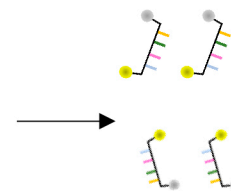
1. As amostras são recolhidas do nariz ou garganta usando uma zaragatoa

2. Inativação do vírus e extração de RNA



3. Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR)

Transcrição reversa não acontece



Não há cDNA

Não há amplificação do DNA na amostra

Não há amplificação de cDNA

Nenhuma fluorescência é detetada

Gráfico esperado



Nº ciclos de amplificação

Teste para quantificar anticorpos contra o SARS-CoV-2 por ELISA

É muito importante saber quantas pessoas foram infetadas e recuperaram. Durante a infeção por SARS-CoV-2, o sistema imunológico é activado e produz várias moléculas para combater o vírus, incluindo anticorpos específicos, geralmente cerca de 10 a 12 dias após a infecção.

Nas pessoas que recuperaram, é expectável que os anticorpos se mantenham em circulação durante muitos meses, como memória da infeção passada, e confirmam resistência a novas infeções. As pessoas que recuperaram são assim protegidas no caso de encontrarem o vírus novamente. Esta propriedade é que permite adquirir uma imunidade populacional que protege os mais vulneráveis numa sociedade.



Teste para quantificar anticorpos contra o SARS-CoV-2 por ELISA

Os testes por ELISA (12) usam essa memória para identificar as pessoas que já tiveram a infecção COVID-19.

O teste consiste em imobilizar uma proteína do vírus numa superfície de plástico. Um pouco de sangue ou soro é adicionado a essa superfície. Se no sangue estiverem presentes anticorpos produzidos contra essa proteína do vírus, esses anticorpos ficarão retidos na superfície. Posteriormente, esses anticorpos podem ser facilmente detetados por um segundo anticorpo que contém um produto químico que permite a sua revelação. Se não houverem anticorpos no soro ou sangue, não haverá sinal.

Os testes por ELISA são geralmente menos robustos que os testes por PCR, mas são os únicos que podem ser usados na identificação de quem foi infectado por SARS-CoV-2.

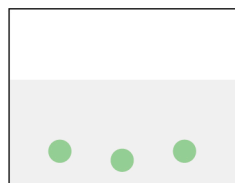


Teste para quantificar anticorpos contra o SARS-CoV-2 por ELISA

O que é?

Resultado Positivo:

Proteína antigénica SARS-CoV-2 liga-se ao fundo da placa



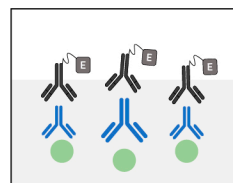
Um agente bloqueador é adicionado para preencher áreas onde não há antígeno

Amostra de soro do paciente é adicionada



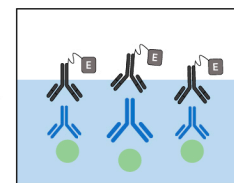
Os anticorpos presentes no soro ligam-se ao antígeno viral

Anticorpo secundário com enzima acoplada é adicionado



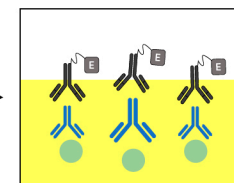
Anticorpos secundários ligam-se aos anticorpos dos pacientes

Substrato é adicionado



A enzima reage com o substrato produzindo uma cor azul

Ácido é adicionado



A reação pára e a cor torna-se amarela

Resultado Negativo:

Proteína antigénica SARS-CoV-2 liga-se ao fundo da placa

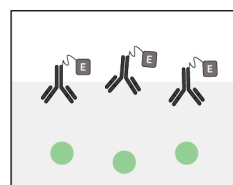


Amostra de soro do paciente é adicionada



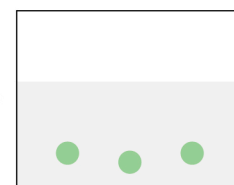
Não há ligação se os anticorpos não estiverem presentes no soro

Anticorpo secundário com enzima acoplada é adicionado



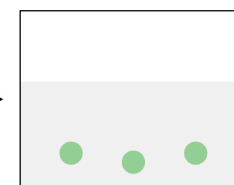
Não há ligação e o anticorpo secundário é eliminado por lavagem

Substrato é adicionado

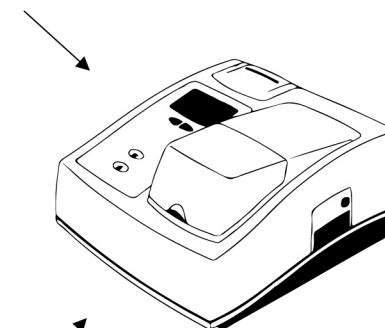


Não há enzima presente para reagir com o substrato

Ácido é adicionado



Não há cor



Leitura da densidade óptica

→ As setas indicam passos de lavagem

Para saber mais, pode consultar os artigos científicos e os websites indicados:

1) Fehr, A.R, Perlman, S. (2015) Coronaviruses: An overview of their replication and pathogenesis. Methods Mol Biol. 1282:1-23. DOI: 10.1007/978-1-4939-2438-7_1.

2) Lim, YX, Ng, YL, Tam, JP, Liu, DX. (2016) Human Coronaviruses: A review of virus-host interactions. Diseases. 4 (3). pii: E26. DOI: 10.3390/diseases4030026.

3) Wrapp, D. *et al.*, (2020) Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation. Science 367(6483): 1260-1263. DOI: 10.1126/science.abb2507

4) Walls *et al.*, (2020) Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. Cell. 180: 1–12. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.058

5) Hoffmann *et al.*, (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. Cell. DOI: 10.1016/j.cell.2020.02.052

6) Hamming I, *et al.*, (2004) Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. J Pathol. 203(2):631-7. DOI:10.1002/path.1570

7) Liu, J., *et al.* (2020) Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection *in vitro*. Cell Discov. 6:16. DOI: 10.1038/s41421-020-0156-0

8) Gautret P, *et al.*, (2020) Hydroxychloroquine and azithromycin as a treatment of COVID-19: results of an open-label non-randomized clinical trial. International Journal of Antimicrobial Agents.

9) <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=COVID-19>

10) <https://cepi.net>

11) [https://pt.wikipedia.org/wiki/Reação em cadeia da polimerase](https://pt.wikipedia.org/wiki/Reaç%C3%A3o_em_cadeia_da_polimerase)

12) <https://pt.wikipedia.org/wiki/ELISA>



Instituto
de Medicina
Molecular

João
Lobo
Antunes

