

## DETECCÃO SARS-COV-2 EM DIFERENTES AMOSTRAS BIOLÓGICAS

Investigar a biodistribuição do SARS-CoV-2 é importante para o entendimento da transmissão pelas vias respiratórias e também por outras outras vias, bem como para auxiliar na explicação da rápida disseminação da doença. Além disso, o teste de diferentes amostras biológicas pode melhorar a sensibilidade e reduzir os resultados falso-negativos. Algumas amostras coletadas de outros sítios têm se mostrado positivas por um período maior que as amostras respiratórias, inclusive após a cura do paciente. Esse achado mostra a possibilidade de transmissão mesmo após a cura clínica do paciente.

*Estudos que investigaram SARS-CoV-2 em diferentes amostras biológicas*

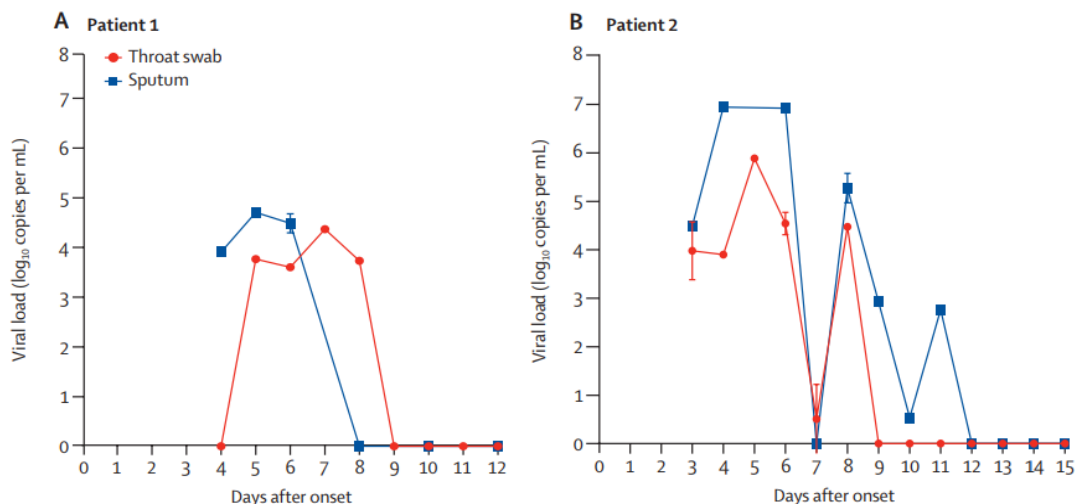
- **Swab nasofaríngeo, orofaríngeo e garganta**

Para realização dos testes moleculares, para o diagnóstico da COVID-19, as amostras de swab nasofaríngeos são as mais indicadas e amplamente coletadas. Wang et al. (2020) utilizaram essa metodologia para detecção da presença do vírus em swab nasal, e a detecção foi de 63% (5/8). Esse grupo e outros autores utilizaram a coleta de swab orofaríngeo e obtiveram a detecção variando de 32% (126/398) (WANG et al., 2020) a 78% (7/9) (PENG et al., 2020) entre os pacientes estudados. O período de detecção aconteceu entre o 3º e o 7º dia após o início dos sintomas para Peng et al. (2020), e para Pan et. al. (2020), a detecção já iniciou um dia antes do início dos sintomas, com detecção de alta carga viral até o 9º dia, e diminuição a partir do 15º dia.

- **Escarro**

As amostras de escarro se mostraram tão importantes, quanto as coletas de swab nasal e orofaríngeo, para detecção de SARS-CoV-2. Ambas amostras atingiram o pico de carga viral entre 5-6 dias após o início dos sintomas. Os autores destacam que é um padrão diferente ao acontecido com pacientes com SARS, no qual normalmente o pico ocorre no 10º dia. Além disso, amostras de escarro geralmente mostraram maiores cargas virais do que amostras de nasofaringe (Figura 1), (PAN et al., 2020). Wang e col. (2020), também

identificaram a presença de SARS-CoV-2 em 72% (72/104) das amostras de escarro de pacientes com COVID-19.



**Figura 1.** Dinâmica viral em pacientes infectados com SARS-CoV-2.  
doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4

- **Lavado broncoalveolar**

Wang, et al. (2020) estudaram 1070 amostras de 205 pacientes, e analisaram a presença do SARS-CoV-2 em diferentes amostras biológicas. Entretanto, escolheu pacientes graves para o estudo de lavado broncoalveolar (n=15), e destes, 93% apresentaram positividade para SARS-CoV-2.

- **Fezes**

Vários autores detectaram a presença de SARS-CoV-2 em amostras de fezes. Em um estudo com 17 casos confirmados da COVID-19, a presença do vírus nas fezes em nove pacientes (53%; dias 0-11 após o início) (PAN et al., 2020). Outro trabalho identificou a presença viral em 29% das amostras de fezes (44/153) (WANG et al., 2020). Em relação à carga viral, Peng et al. (2020) mostraram que, em um paciente, a carga viral encontrada na amostra de swab anal foi ligeiramente maior do que a encontrada no swab orofaríngeo. E a positividade em swab anal foi detectada a partir do 3º dia após o início dos sintomas (PENG et al., 2020).

Xiao et al.(2020), mostraram que todos os 74 pacientes com COVID-19 analisados, apresentaram o vírus nas fezes, e a permanência variou de 1 a 12 dias. É importante ressaltar, que em 14 pacientes o RNA viral continuou a ser detectado nas fezes mesmo quando já havia negativado sua detecção em amostras respiratórias destes pacientes.

- **Esôfago, estômago, duodeno e reto**

Apenas um estudo relata a presença de SARS-CoV-2 no citoplasma de tecido gástrico, duodenal, e células epiteliais glandulares do reto, mas não no epitélio esofágico a partir de biópsia de um paciente no décimo dia da infecção viral (XIAO et al., 2020). A detecção do vírus no estômago, duodeno e reto foram relacionadas a presença do receptor do hospedeiro viral ECA2 principalmente no citoplasma das células epiteliais gastrointestinais, assim como, observaram que a ECA2 raramente é expressa em epitélio esofágico, mas é abundantemente distribuída nos cílios do epitélio glandular.

- **Urina**

A detecção do SARS-CoV-2 na urina ainda é inconclusiva, conforme os poucos relatos da literatura. No estudo realizado por Wang et al. (2020), todas as 72 amostras de urina testadas foram negativas. Enquanto que, em outro trabalho, uma paciente de 31 anos sem qualquer irritação urinária, teve resultados positivos da SARS-CoV-2 tanto na urina, como no swab orofaríngeo no 7º dia após o início dos sintomas (PENG et al., 2020). Adicionalmente, um estudo com outro coronavírus (SARS-CoV) indicou a presença do vírus na urina e nas fezes, quatro semanas após a cura do paciente (XU et al., 2005).

- **Sangue**

A identificação do SARS-CoV-2 no sangue também é inconclusiva e pouco relatada. Em um estudo com 307 pacientes, apenas 1% apresentou resultados positivo em amostras de sangue (WANG et al., 2020). Enquanto, em outro trabalho, um paciente teve resultado positivo no sangue no 3º dia após o início dos sintomas (PENG et al., 2020).

- **Leite materno**

Amostras de leite materno, líquido amniótico, sangue do cordão umbilical, e swab orofaríngeo de neonatos, testadas até o momento, resultaram negativas para SARS-CoV-2. Não há relatos de transmissão vertical intra-uterina. O aleitamento oferece proteção contra muitas doenças e é a melhor fonte de nutrição para a maioria dos bebês. Assim, a recomendação do CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*) é que a mãe positiva para o vírus pode escolher entre o aleitamento direto e a extração de leite. Neste último caso, a bomba de extração deve ser corretamente higienizada (CHEN et al., 2020).

- **Sêmen**

Até o momento, não foi possível detectar a presença do RNA do SARS-CoV-2 em amostras de sêmen. Os autores Song et al. (2020) mostram que em 12 pacientes testados não foi possível detectar o vírus. Eles também relatam a realização de biópsia testicular negativa em um paciente que evoluiu à óbito.

- **Fluido vaginal**

Em um estudo, com 35 mulheres positivas para SARS-CoV-2 e sintomáticas, foram coletados seus fluidos vaginais, incluindo células esfoliadas de resíduos cervicais e vaginais, que testaram todas negativas para presença do vírus. Assim, visto a negatividade em sêmen e fluido vaginal não há evidências científica suficientes para transmissão sexual (QUIU et al., 2020; CUI et al., 2020)

*Recomendações sobre quais amostras devem ser coletadas*

Considerando a limitação de testes e escolhas de amostras biológicas para detecção do SARS-CoV-2, no mínimo, deve ser colhido material respiratório:

- ✓ Amostras das vias respiratórias superiores: swab nasofaríngeo e orofaríngeo em doentes ambulatorios;
- ✓ Amostras das vias respiratórias inferiores: expectoração (se produzida) e/ou aspiração endotraqueal ou lavado broncoalveolar em pacientes com doenças

respiratórias mais graves. (Notar risco elevado de aerossolização; aderir estritamente aos procedimentos de prevenção e controle das infecções).

- ✓ Podem ser colhidas amostras clínicas adicionais, uma vez que o vírus SARS-CoV-2 foi detectado no sangue e nas fezes, tal como aconteceu com os coronavírus responsáveis pela SRA e MERS. (World Health Organization: Laboratory testing for coronavirus disease ( COVID-19 ) in suspected human cases, 2020).

### *Considerações*

✓ CDC recomenda dar alta (descontinuação de precauções baseadas na transmissão) aos pacientes hospitalizados quando a detecção de RNA SARS-CoV-2 em pelo menos duas amostras de swab nasofaríngeo consecutivas coletadas com intervalo de  $\geq 24$  horas (total de duas amostras negativas) (Centers for Disease Control and Prevention: Discontinuation of Transmission, 2020). Porém, Xiao et al. (2020) afirma a permanência do vírus nas fezes (20% dos pacientes) mesmo após esse período. Ressaltam que a infecção gastrointestinal viral e a potencial transmissão fecal-oral podem durar mesmo após a depuração viral no trato respiratório. Assim, recomendam o acompanhamento da presença do RNA SARS-CoV-2 nos pacientes rotineiramente.

### **Acondicionamento e envio das amostras**

- As amostras para detecção de vírus devem chegar ao laboratório logo que possível após a coleta. O manuseamento correto das amostras durante o transporte é essencial. As amostras que forem entregues, prontamente, no laboratório podem ser armazenadas e enviadas a 2-8°C.
- Quando for provável um atraso na chegada das amostras ao laboratório, é fortemente recomendada a utilização de meio de transporte viral. As amostras podem ser congeladas a -20°C ou, idealmente, a -70°C e expedidas em gelo seco, caso se prevejam novos atrasos. É importante evitar o congelamento e o descongelamento repetidos dos espécimes (World Health Organization: Laboratory testing for coronavirus disease ( COVID-19 ) in suspected human cases, 2020)

**Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM**

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

### Consequências da dinâmica viral em diferentes amostras clínicas

Todas as medidas de prevenção relacionadas com o SARS-CoV-2 são válidas e oriundas do conhecimento de que a COVID-19 é uma doença de caráter respiratório. Assim, cuidados ao tossir e espirrar, adicionado ao uso de máscaras, higiene das mãos e distanciamento social são fatores decisivos para a diminuição de pessoas infectadas pelo vírus. No entanto, uma vez que se conhece a dinâmica biológica do SARS-CoV-2, e a detecção deste em diferentes amostras biológicas, os horizontes devem ser avançados e outras medidas devem ser tomadas. Nesse sentido, a transmissão oral-fecal é importante e deve ser valorizada.

O Grupo de Estudo de Evidências em COVID-19 já trouxe materiais de ampla divulgação relacionados ao uso de banheiros públicos e que podem ser acessados nesse link (<http://www.noticias.uem.br/images/2019/2020/cartilha-coronavirus-banheiro-publico.pdf>). Porém, além desse conhecimento, é importante buscar evidências quanto aos esgotos, especialmente porque em nosso país o saneamento básico não é uma realidade para todos.

As recomendações do CDC indicam que, neste momento, o risco de transmissão do SARS-CoV-2, através dos sistemas de esgotos, é considerado baixo, já que ainda não há relatos descritos. No entanto, não descarta essa possibilidade. O documento sugere que as práticas normais de cloração do sistema municipal de águas residuais podem ser suficientes para inativar os coronavírus. Também sugere que o uso de práticas de higiene e o uso de equipamentos de proteção individual (EPI) são suficientes (Centers for Disease Control and Prevention: Water and COVID-19 FAQs, 2020).

Algumas reportagens em revistas de cunho científico, como *Nature*, têm indicado o papel da análise dos esgotos para avaliar a verdadeira dimensão do surto de coronavírus. Os pesquisadores sugerem que a vigilância de rotina das águas residuais poderia ser utilizada como um instrumento não invasivo de alerta precoce para comunicar as comunidades sobre as novas infecções pela COVID-19. Um grupo de pesquisa dos Estados Unidos testou as águas residuais recolhidas numa importante instalação de tratamento urbano em Massachusetts e constatou a presença do SARS-CoV-2 em títulos elevados no período de 18 a 25 de março, por RT-qPCR. Os títulos virais observados foram significativamente

**Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM**

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

superiores ao esperado, com base em casos clinicamente confirmados na região, a partir de 25 de março. Embora os pesquisadores não tenham atribuído essa discrepância a um erro nas estimativas clínicas eles sugerem que esta abordagem poderia ser útil na vigilância sanitária da pandemia do SARS-CoV-2 e de futuros surtos.

Na Holanda, detectou-se o SARS-CoV-2 em amostras de esgoto do aeroporto de Schiphol em Amsterdã, bem como em outras estações de tratamento de esgoto das cidades de Kaatsheuvel e Tilburg (sendo que esta última trata o esgoto do aeroporto de Schiphol). A detecção aconteceu após duas semanas da confirmação do primeiro caso de COVID-19 na região (MEDEMA et al., 2020). O estudo reforça a preocupação com modos de monitoramento dos esgotos como uma boa estratégia para detecção da infecção viral na população. Destaca-se, neste contexto, a situação brasileira, na qual apenas são tratados 46% do esgoto gerados no país (segundo o Sistema Nacional de Informações sobre Saneamento - SNIS 2018). A consequência poderá ser o aumento da disseminação do SARS-CoV-2 no ambiente e, por isso, para a população que não tem acesso ao saneamento básico.

## REFERÊNCIAS

1. Peng L, Liu J, Xu W, Luo Q, et al. 2019 Novel Coronavirus can be detected in urine, blood, anal swabs and oropharyngeal swabs samples. 2020. **medRxiv**. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.02.21.20026179>.
2. Chen H, Guo J, Wang C, Luo F, Yu X, Zhang W, et al. Clinical characteristics and intrauterine vertical transmission potential of COVID-19 infection in nine pregnant women: a retrospective review of medical records. **Lancet**. 395(10226):809–15. doi: 10.1016/S0140-6736(20)30360-3
3. Cui P, Chen Z, Wang T, Dai J, Zhang J, Ding T, et al. Clinical features and sexual transmission potential of SARS-CoV-2 infected female patients: a descriptive study in Wuhan, China. 2020. **medRxiv**. doi: 10.1101/2020.02.26.20028225
4. Garabedian C. COVID19 and Breastfeeding: Not That Simple Editor's note. 2020;00(0):1–2. **Journal of Human Lactation**. doi: 10.1177/0890334420917102

5. Song C, Wang Y, Li W, Hu B, Chen G, et al. Detection of 2019 novel coronavirus in semen and testicular biopsy specimen of COVID-19 patients. 2020. **medRxiv**. doi: 10.1101/2020.03.31.20042333
6. Wang W, Xu Y, Gao R, Lu R, Han H, et al. Detection of SARS-CoV-2 in Different Types of Clinical Specimens. 2020;3–4. **JAMA**. doi:10.1001/jama.2020.3786
7. Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X, Shan H. Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. **Gastroenterology**. 2020;1–3. doi: 10.1053/j.gastro.2020.02.055
8. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases. 2020;(March):1–7.
9. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Pregnancy and Breastfeeding. 2020;2019:2019–20.
10. Qiu L, Liu X, Xiao M, Xie J, Cao W, Liu Z, et al. SARS-CoV-2 is not detectable in the vaginal fluid of women with severe COVID-19 infection. **Clinical Infectious Diseases**. doi.org/10.1093/cid/ciaa375
11. Pan X, Chen D, Xia Y. Viral load of SARS-CoV-2 in clinical samples. **Lancet Infect Dis**. 20(4):411–2. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30113-4.
12. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Discontinuation of Transmission-Based Precautions and Disposition of Patients with COVID-19 in Healthcare Settings (Interim Guidance), 2020.
13. Zhang DXZ, Chu LJF, Wang YMH, Wang MLM, Gao LZGF. Persistent shedding of viable SARS-CoV in urine and stool of SARS patients during the convalescent phase. 2005;165–71. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. doi: 10.1007/s10096-005-1299-5
14. Centers for Disease Control and Prevention. Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Water and COVID-19 FAQs, 2020.
15. Medema G, Heijnen L, Elsinga G, Italiaander R, Medema G. Title page Presence of SARS-Coronavirus-2 in sewage. **medRxiv**. 2020. doi: 10.1101/2020.03.29.20045880

Os autores informam que devido às crescentes atualizações sobre o tema COVID-19, este texto poderá ser atualizado e substituído no site.

Maringá, 22.04.2020, 10:00h