

SARS-COV-2: COMPARAÇÃO DOS DIFERENTES TESTES DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL - UMA REVISÃO ADAPTADA À REALIDADE PORTUGUESA

SARS-COV-2: COMPARISON OF DIFFERENT LABORATORY DIAGNOSTIC TESTS - A REVIEW ADAPTED TO THE PORTUGUESE REALITY

Autores

Elsa Almeida - Serviço de Patologia Clínica, Hospital Amato Lusitano, Unidade Local de Saúde de Castelo Branco EPE e Escola Superior de Saúde De. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco, PhD.

Tânia Silva - Serviço de Patologia Clínica, Hospital Amato Lusitano, Unidade Local de Saúde de Castelo Branco e Universidade da Beira Interior, BSc, MSc Student.

Centro de execução do trabalho

Não Aplicável

Conflitos de interesse

A equipa de investigação declara a não existência de conflitos de interesse na realização do estudo

Fontes de Financiamento

Não existiu qualquer fonte de financiamento de contribuição para a realização do estudo

Contacto do autor responsável

elsaalmeida.1983@gmail.com

Tipo de artigo

Artigo de revisão

Resumo

O vírus SARS-CoV-2 é muito infeccioso e facilmente transmissível. O diagnóstico precoce é fundamental para interromper as cadeias de transmissão.

Objetivo

O objetivo deste trabalho é apresentar diferentes metodologias de diagnóstico: características, vantagens e limitações.

Métodos

Revisão bibliográfica de documentos científicos publicados em 2019 e 2020 com o tema: Diagnóstico de infecções provocadas por SARS-CoV-2, suas características e desempenho.

Resultados e Discussão

O diagnóstico divide-se em três áreas distintas: Os testes moleculares RT-PCR, método de referência que pesquisa RNA viral; Testes de pesquisa de antígenos rápidos qualitativos; e os testes de imunidade. Os testes moleculares são mais sensíveis, mas mais demorados e com procedimentos complexos. Os testes de antígeno são de despiste rápido mas pouco sensíveis. Enquanto os testes de imunidade não pesquisam o vírus e por isso não devem ser utilizados como diagnóstico, mas sim para acompanhamento epidemiológico. O diagnóstico deve resultar de testes laboratoriais associados a outros exames, radiológicos por exemplo e também sintomatologia.

Conclusão

Todas as metodologias apresentam características diferentes. Devem ser utilizadas de acordo com a situação clínica e propriedades dos testes.

Palavras-chave

RNA Viral (D012367); Diagnóstico Precoce (D042241); Testes Laboratoriais (D019411); Transmissão de Doença Infecciosa (D018562); Vírus da SARS (D045473)

Abstract

The SARS-CoV-2 virus is very infectious and easily transmitted. Early diagnosis is essential to interrupt the transmission.

Objective

The objective of this work is present different diagnostic methodologies: characteristics, advantages and limitations.

Methods

Bibliographic review of scientific documents published in 2019 and 2020 with the theme: Diagnosis of infections caused by SARS-CoV-2, their characteristics and performance.

Results and Discussion

The diagnosis is divided into three distinct areas: The molecular tests RT-PCR, a reference method that searches viral RNA; Qualitative rapid antigen screening tests; and immunity tests. Molecular tests are more sensitive, but take longer and with complex procedures. Antigen tests are screening with low sensitive. While immunity tests do not search for the virus and therefore should not be used as a diagnosis, but for epidemiological monitoring. The diagnosis must result from laboratory tests associated with other exams, radiological for example and also symptomatology.

Conclusion

All methodologies have different characteristics. They must be used according to the clinical situation and properties of the tests.

Keywords

Viral RNA (D012367); Early Diagnosis (D042241); SARS-CoV-2 (D000086402); Laboratories (D007753); Epidemiological Monitoring (D062665); SARS Virus (D045473)

Introdução

Em dezembro de 2019, na cidade chinesa de Wuhan foi identificado um surto de pneumonia associada a um vírus desconhecido até então (Xavier et al., 2020). Foi descrito como sendo um Coronavírus, do género *Betacoronavirus*, da família *Coronaviridae* com origem zoonótica. Tem 60-130nm de diâmetro, genoma de 30 Kb de ácido ribonucleico (RNA) de fita simples com sentido positivo (um dos maiores entre os vírus de RNA) e foi denominado por síndrome respiratória aguda grave - Coronavírus 2 (SARS-CoV-2). A membrana viral do SARS-CoV-2 contém: espículas (S), proteínas de membrana (M) e envelope (E). A nucleocápside (N) tem forma helicoidal e função de proteger o genoma (Figura 1) (Tripathi, et al., 2020; Chauhan et al., 2020).

A Síndrome Respiratória Aguda Grave provocado pelo SARS-CoV-2 tornou-se um problema de saúde pública mundial. Em fevereiro de 2020 a Organização Mundial de Saúde (OMS) anunciou a COVID-19 como a doença provocada pelo novo Coronavírus, SARS-CoV-2, e apenas um mês depois declarou estado de pandemia associado a esta patologia.

Os sintomas mais frequentes são: febre, tosse, anosmia e hiposmia, alterações gastrointestinais e em casos mais graves, infeções respiratórias e pneumonias com necessidade de ventilação artificial, falência multiorgânica e eventual morte. A sintomatologia agrava-se quando associada a outras comorbilidades e há grande número de infetados assintomáticos (Zhao et al., 2020).

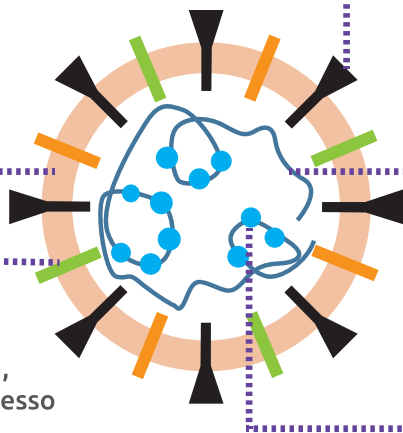
O SAR-CoV-2 é transmitido por contacto com gotículas respiratórias e objetos contaminados. O período de incubação da doença varia entre 2 a 10 dias, com tendência a agravar-se entre o 4 e 5 dias após exposição (Laureano & Riboldi, 2020).

A OMS contabilizou até dia 9 de fevereiro de 2021, 106 125 682 casos confirmados de COVID-19 e 2 320 497 mortes. Em Portugal os números também são avultados, até ao mesmo dia foram contabilizados segundo a Direção Geral de Saúde (DGS) 770 502 casos confirmados de COVID-19 e 14 557 pessoas perderam a vida.

Alguns países decretaram períodos de quarentena e medidas de incentivo ao isolamento na tentativa de minimizar os contágios, mas com perdas avultadas a nível económico e social.

Envelope, é uma bi-camada lipídica com função de evitar o sistema imunológico do hospedeiro. Contém proteína E, que está envolvida em aspetos críticos do ciclo viral e é utilizada no diagnóstico.

Proteína de membrana (M), importante durante o processo libertação do vírus.



A glicoproteína spike (S), medeia a entrada viral usando ACE2. Composta por 2 subunidades, S1 que se ligam ao recetor da célula hospedeira e S2 responsável pela fusão das membranas celular e viral.

Genoma de RNA com sentido positivo, com aproximadamente 30Kb.

Nucleocápsídeo, protege o genoma viral e facilita a síntese de RNA.

Figura 1 -Diagrama representativo da estrutura do vírus SARS-CoV-2.

Fonte: Imagem adaptada de Tripathi, et al.,(2020).

O diagnóstico laboratorial precoce é fundamental para identificar infetados e minimizar as cadeias de transmissão. O objetivo deste trabalho é apresentar diferentes metodologias de diagnóstico: características, vantagens e limitações.

Material e Métodos

Este artigo é uma revisão bibliográfica de documentos científicos publicados em 2019 e 2020 com o tema: Diagnóstico de infeções provocadas por SARS-CoV-2, suas características e desempenho. Consideraram-se também as orientações da OMS e da DGS.

Resultados

De uma forma geral, os testes de diagnóstico SARS-CoV-2 dividem-se em três grupos: (A) os testes moleculares, onde se pesquisam sequências do genoma viral, ou seja RNA do vírus; (B) testes sorológicos, onde se pesquisa a presença de anticorpos formados pelo sistema imunitário do hospedeiro contra o vírus; (C) testes de deteção de antigénios virais, onde se pesquisa a presença de proteínas virais (Islam & Iqbal, 2020).

(a) Deteção de ácidos nucleicos (RNA) de SARS-CoV-2, através de teste molecular de amplificação de ácidos nucleicos (TAAN) em amostra respiratória

A primeira abordagem de diagnóstico, e por se tratar de um vírus desconhecido até então, teve como base o genoma que foi sequenciado e publicado após o início do surto em Wuhan (GenBank: MN908947.3). Foi usado para desenhar primers e sondas específicas para determinados genes, como ORF 1a, ORF 1b, RdRp (gene da RNA polimerase), E e N, representados na Figura 2 e utilizados em técnicas de biologia molecular como RT PCR (Ahn et al., 2020; Tripathi et al., 2020).



Figura 2 - Representação dos genes utilizados para detetar a presença de SARS-CoV-2 em RT-PCR. Fonte: Modificado de Ahn et al., (2020).

Esta metodologia amplifica apenas material genético do vírus, aumentando a especificidade. Obtém-se um valor de Ct, que representa o número de ciclos de replicação necessários para produzir um sinal fluorescente mensurável. Valores mais baixos de Ct representam maior carga de RNA (Figura 3). Como em todas as outras áreas do diagnóstico laboratorial, devem ser sempre utilizados controlos internos, para assegurar a qualidade do produto biológico e do processo de diagnóstico laboratorial (Hong et al., 2020). Um resultado laboratorial “Detetado” implica um resultado de Reação em cadeia da Polimerase em tempo real, precedida de transcrição reversa (RT-PCR) positivo para dois genes distintos em que um deles é um gene específico SARS-CoV-2, (Figura 3) e que o distingue por exemplo de outros Coronavírus, incluindo o Sars-Cov-1 (Tahamtan & Ardebili, 2020; Bustin & Nolan, 2020).

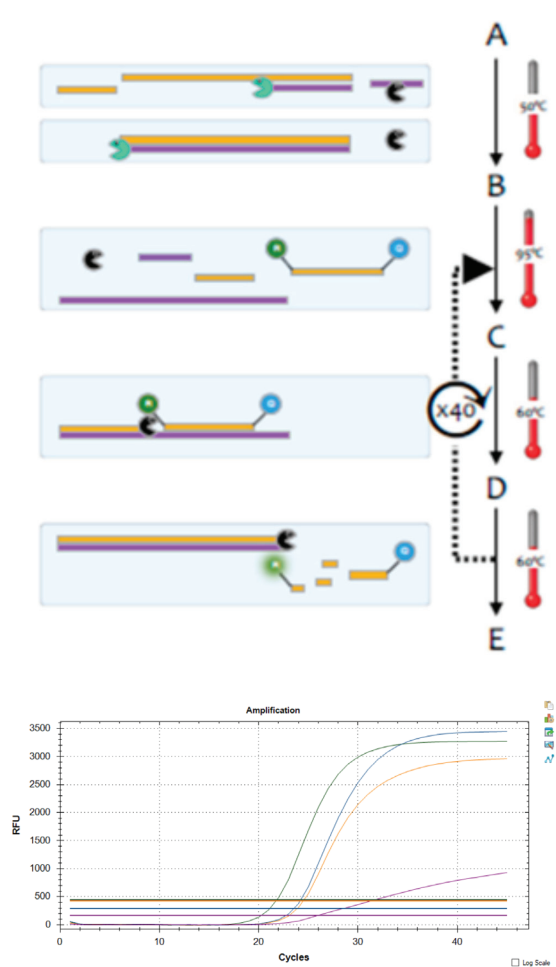


Figura 3 - Esquema representativo de uma reação RT-PCR. A) Transcrição para cDNA; B) Fase de desnaturação, as amostras são aquecidas a 95°C o que desnatura o RNA, mas deixa o cDNA intacto; C) Anéis, a temperatura é reduzida para cerca de 60°C, permite que os primers específicos e a sonda se liguem; D) Amplificação, a polimerase estende cDNA, a partir de apenas um primer, isso separa o fluoróforo e o supressor e resulta na emissão de luz. Curva azul: detecção do gene N; Curva verde: detecção do gene ORF1a; Curva laranja: detecção do gene E (SARS-CoV-2). Curva roxa: detecção do gene humano RNase (controlo interno). Fonte: Imagem adaptada de Bustin & Nolan, (2020).

A OMS recomenda a pesquisa de RNA em pacientes suspeitos de infecção em amostras de origem

respiratória, orofaríngea, nasofaríngea, expetoração e lavados brônquicos. A amostra mais utilizada é de origem nasofaríngea, colhida em zaragatoa de fibra sintética e haste plástica, acondicionada em meio de conservação/ transporte apropriado para vírus. O exterior deve ser desinfetado no local da colheita e embalado em três invólucros, transportado rapidamente para o laboratório e refrigerado (Islam & Iqbal, 2020).

É uma metodologia sensível e específica (Tabela 1), eficiente no diagnóstico de infecções respiratórias agudas, as características dependem dos protocolos utilizados (Chauhan et al., 2020; Cheng et al., 2020).

B) Testes sorológicos, onde se pesquisa a presença de anticorpos formados pelo sistema imunitário do hospedeiro contra o vírus

Os testes sorológicos não permitem identificar a presença de vírus, mas sim, verificar se existiu contacto prévio. No entanto com o evoluir da pandemia e com a vacinação, ganham cada vez mais importância.

Quantificam/detetam os anticorpos presentes no sangue quando o corpo está a reagir a uma infecção específica (Younes et al., 2020). Os anticorpos podem ser detetados de forma automatizada utilizando metodologias quantitativas como ELISA e Quimioluminescência ou pelas metodologias qualitativas de despiste rápido como a Imunocromatografia (Islam & Iqbal, 2020; Oliveira, 2020).

Detetam imunoglobulinas M e A (IgM e IgA) para SARS-CoV-2, 1 a 3 dias após a infecção e imunoglobulinas G (IgG) entre 7-10 dias e são especialmente recomendados para uso em larga escala no rastreio de resposta imunológica da população ou determinado grupo. A seroconversão de IgM e IgG parece ocorrer na terceira a quarta semana após o início da sintomatologia. O título de IgM diminui e IgG aumenta, podendo persistir durante mais tempo, aproximadamente sete semanas. Desconhece-se ainda se estes anticorpos conferem imunidade de longa duração, IgG memória (Magalhães, 2020; Zhao et al., 2020).

São determinados a partir de uma colheita de sangue periférico (soro ou sangue total) em vez de colheita nasofaríngea, e normalmente melhor aceite pelo paciente. Este tipo de amostragem é mais estável e homogênea mas tem a desvantagem de não detetar infecções iniciais e/ou infecções ligeiras, não sendo por

isso recomendado para diagnóstico de infecção aguda. A sensibilidade varia entre fabricantes e é condicionada pelo número de dias de infecção após a exposição e sintomatologia. Pode variar entre 84%, no teste da Roche Elecsys IL-6, e 100% no teste da Abbott Laboratories Inc. A especificidade é baixa e pode variar, por exemplo, entre 63% (Roche Elecsys IL-6) e 100% (Vitros, Ortho Clinical Diagnostics)(Chauhan et al., 2020).

(C) Testes de deteção de antígenos virais (TRAg), onde se pesquisa a presença de proteínas virais.

Estes testes pesquisam proteínas virais específicas do SARS-CoV-2 e são maioritariamente imunocromatográficos. São métodos qualitativos de rastreio rápido, 10-30 minutos, e a informação sobre o seu desempenho clínico ainda é reduzida. Permitem o diagnóstico precoce da doença em fase aguda e apresentam bom desempenho especialmente em sintomáticos (Oliveira, 2020). São úteis para evitar cadeias de transmissão e devem realizar-se em suspeitos nos primeiros 5 dias após o contacto, para diminuir o risco de falsos negativos (Xavier et al., 2020). A sensibilidade é baixa e varia entre fabricantes. Um resultado positivo deve ser confirmado pelo método de referência RT-PCR.

O teste realiza-se em amostras respiratórias, frequentemente orofaríngeas ou nasofaríngeas, de acordo com as recomendações do fabricante.

Discussão

Não há metodologias de diagnóstico perfeito, todas apresentam limitações. Devem ser utilizadas de acordo com as suas características e situação clínica. Qualquer teste de diagnósticos, independente do método, está sujeito a interferências dos utilizadores e da amostragem, por isso devem ser utilizadas estratégias de verificação (controlos internos). As amostras devem ser colhidas, conservadas e processadas por técnicos de saúde com experiência no diagnóstico laboratorial. O acondicionamento e conservação influenciam diretamente os resultados obtidos (Younes et al., 2020). Os resultados falsos, positivos ou negativos são uma preocupação para o próprio indivíduo, mas nesta situação de pandemia tomam-se ainda mais graves. Enquanto um falso positivo prejudica o indivíduo ao nível pessoal, social e financeiro, um falso negativo pode contribuir para a disseminação do vírus (Casas, et al., 2020).

Uma pessoa infetada pelo vírus, leva em média 5-6 dias para desenvolver sintomas (período de incubação), podendo variar entre 1 e 14 dias após contacto. A sintomatologia piora em média ao 5º dia, quando a carga viral é máxima e pode manter-se durante um período longo dependendo da capacidade de resposta do sistema imunitário. Os sintomas podem ser inexistentes, ligeiros ou graves (Chauhan et al., 2020; Dias et al., 2020).

O vírus pode ser detetado no trato respiratório superior, 1-3 dias antes do início dos sintomas por RT-PCR. Em alguns pacientes, o RNA viral é detetável por vários dias, enquanto noutros pode ser detetado durante semanas ou meses (Tahamtan & Ardebili, 2020). A presença prolongada de RNA viral não significa necessariamente infecção prolongada (CDC, 2020). O período infeccioso está relacionado com o número de dias que demora até deixar de manifestar sintomas, diminuição da carga viral respiratória e aumento de anticorpos (Tahamtan & Ardebili, 2020).

Os testes RT-PCR são o método de referência para detetar SARS-CoV-2 numa fase inicial da doença (Evans, 2001). Podem detetar genes, ou fragmentos de proteínas residuais após o período infeccioso, o que dificulta a interpretação epidemiológica. Há também relatos de casos suspeitos com características de COVID-19 em que não foi detetado o vírus. Por isso, um resultado negativo não exclui uma infecção, e não deve ser considerado como o único critério de diagnóstico. O resultado está condicionado pelo limite de deteção, numa fase inicial da doença. Cargas virais baixas, podem não ser detetadas (Tahamtan & Ardebili, 2020). Também os falsos positivos são uma possibilidade nesta metodologia. O RNA é muito volátil e quando as cargas virais são altas há possibilidade de contaminação. Para melhorar a capacidade de resposta foram desenvolvidos alguns testes automáticos de RT-PCR. Neste caso, a deteção de RNA é feita de forma automática, com pouco manuseamento, são por isso mais rápidos e seguros. Necessita de equipamento complexo, e profissionais especializados. É sensível e específico mas demorado (Borger et al., 2020).

O SARS-CoV-2 continua a adquirir mudanças genéticas ao longo do tempo, incompatibilidades entre primers e/ou sondas e correspondentes locais de ligação podem reduzir a sensibilidade em testes moleculares.

Os testes RT-PCR numa fase inicial da pandemia foram os únicos aceites pela OMS. Em Portugal a DGS legisla a estratégia Nacional para o diagnóstico e rastreio da infeção por SARS-CoV-2 e em novembro de 2020 a alteração através da norma 020/2020 considera a pesquisa de RNA e os testes rápidos de pesquisa de antigénio, válidos para diagnóstico de infeção (DGS - Direção Geral da Saúde, 2020b; DGS - Direção Geral da Saúde, 2020a).

O período de deteção dos testes de antigénio é semelhante aos testes moleculares, no entanto com o evoluir da infeção torna-se menos confiável devido à resposta imunitária. Estes testes têm especial interesse no rastreio uma vez que a probabilidade preditiva de positivo é boa e são testes de realização simples e rápida. Eficazes na identificação precoce de infeções. A baixa sensibilidade quando comparada com o teste de referência (RT-PCR) limita os resultados, e aumenta a probabilidade de falsos negativos (Laureano & Riboldi, 2020). O desempenho é melhor em suspeitos sintomáticos, entre 5-7 dias após o contacto, período com maior carga viral.

Os testes de antigénio são recentes e há poucas informações sobre o seu desempenho, foi por isso necessário estabelecer critérios mínimos de aceitação. Em Portugal são aceites pela DGS testes com sensibilidade superior ou igual a 90% e especificidade mínima de 97%.

Os testes sorológicos não detetam o vírus mas oferecem algumas vantagens. Identificam indivíduos que desenvolveram anticorpos específicos para o vírus e, portanto, podem detetar infeções anteriores e fornecer melhores informações sobre a prevalência da doença na população. Ao contrário do RNA viral, os anticorpos específicos do vírus permanecem no sangue por várias semanas após o início dos sintomas. Os anticorpos IgM são detetáveis apenas alguns dias após a infeção inicial (1-3 dias) e a IgG, 7 a 10 dias depois. Considerando o fato de que 20 a 80% dos casos positivos para SARS-CoV-2 são assintomáticos, os testes sorológicos são especialmente importantes para caracterizar a população em larga escala e para avaliar a resposta imunológica.

A apresentação mais simples e rápida (10-20 minutos) é qualitativa, a imunocromatografia é o método mais utilizado. A baixa sensibilidade dos

testes rápidos leva a uma maior probabilidade de casos falso-negativos (Casas et al., 2020).

A quantificação necessita de equipamento especializado e o tempo varia com o equipamento e dinâmica laboratorial (Dias, et al., 2020). A interpretação dos resultados exige cautela pois parte da população foi vacinada e portanto imunizada de forma artificial. A especificidade é baixa quando comparada com RT-PCR devido a reações cruzadas propícias ao aumento de falsos positivos principalmente nos testes rápidos (Chauhan et al., 2020).

Estes testes têm a vantagem de detetar anticorpos em amostras de soro ou sangue total, normalmente bem aceites pela população, ao contrário das pesquisas realizadas em amostras nasofaríngeas (Andrey et al., 2020a; Andrey et al., 2020b).

Um resultado negativo, em qualquer metodologia, não exclui a presença da doença pelo que as medidas de segurança e distanciamento devem manter-se (Cheng et al., 2020). O SARS-CoV-2 é um vírus recente e as recomendações são adaptadas de acordo com a informação e experiência disponível. É importante conhecer as capacidades e limitações de cada método e utilizá-las de acordo com o caso clínico e situação epidemiológica, seguindo as orientações do legislador.

Conclusão

Todas as metodologias apresentam características diferentes. A escolha deve ser adequada à história clínica do paciente e probabilidade de risco tendo em conta as propriedades de cada metodologia, suas vantagens e desvantagens.

Nenhum método deve ser utilizado de forma isolada, devem ser complementados com sinais e sintomas e outros exames.

Referências Bibliográficas

- Ahn, D. G., Shin, H. J., Kim, M. H., Lee, S., Kim, H. S., Myoung, J., ... Kim, S. J. (2020). Current status of epidemiology, diagnosis, therapeutics, and vaccines for novel coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 30(3), 313–324. <https://doi.org/10.4014/jmb.2003.03011>
- Andrey, D. O., Cohen, P., Meyer, B., Torriani, G., Yerly, S., Mazza, L., ... Vuilleumier, N. (2020a). Diagnostic accuracy of Augurix COVID-19 IgG serology rapid test. *European Journal of Clinical Investigation*, 50(10), 1–7. <https://doi.org/10.1111/eci.13357>
- Andrey, D. O., Cohen, P., Meyer, B., Torriani, G., Yerly, S., Mazza, L., ... Vuilleumier, N. (2020b). Head-to-Head Accuracy Comparison of Three Commercial COVID-19 IgM/IgG Serology Rapid Tests. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2369. <https://doi.org/10.3390/jcm9082369>
- Borger, P., Malhotra, R. K., Yeadon, M., Clare, C., McKernan, K., Steger, K., ... Kämmerer, U. (2020). External peer review of the RTPCR test to detect SARS-CoV-2 reveals 10 major scientific flaws at the molecular and methodological level: consequences for false positive results. *Zenodo*, [Preprint](November). <https://doi.org/10.5281/zenodo.4298004>
- Bustin, S. A., & Nolan, T. (2020). RT-QPCR testing of SARS-COV-2: A primer. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(8). <https://doi.org/10.3390/ijms21083004>
- Casas, C. P. R., Silva, J., Castro, R., Ribeiro-Alves, M., & Franco, C. M. (2020). Avaliação de tecnologias em saúde: Tensões metodológicas durante a pandemia de COVID-19. *Estudos Avancados*, 34(99), 77–96. <https://doi.org/10.1590/S0103-4014.2020.3499.006>
- CDC. (2020). Duration of Isolation Precautions for Adults with Duration of Isolation and Precautions for Adults. Centers for Disease Control and Prevention, 2019, 1–7. Retrieved from https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.html?CDC_AA_refVal=https%3A%2F%2Fwww.cdc.gov%2Fcoronavirus%2F2019-ncov%2Fcommunity%2Fstrategy-discontinue-isolation.html%0Ahttps://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/hcp/duration-isolation.ht
- Chauhan, D. S., Prasad, R., Srivastava, R., Jaggi, M., Chauhan, S. C., & Yallapu, M. M. (2020). Comprehensive Review on Current Interventions, Diagnostics, and Nanotechnology Perspectives against SARS-CoV-2. *Bioconjugate Chemistry*, 31(9), 2021–2045. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.0c00323>
- Cheng, M. P., Papenburg, J., Desjardins, M., Kanjilal, S., Quach, C., Libman, M., ... Yansouni, C. P. (2020). Diagnostic Testing for Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus 2: A Narrative Review. *Annals of Internal Medicine*, 172(11), 726–734. <https://doi.org/10.7326/M20-1301>
- DGS - Direção Geral da Saúde. (2020a). Norma 019/2020 - COVID-19: Estratégia Nacional de Testes para SARS-CoV-2. Direção Geral da Saúde, (September), 1–14. Retrieved from https://covid19.min-saude.pt/wp-content/uploads/2020/11/Norma_019_2020_act_06_11_2020.pdf
- DGS - Direção Geral da Saúde. (2020b). Orientação no 002/2020, 10 de fevereiro - Infecção pelo novo Coronavírus (2019-nCoV). Direção Geral da Saúde, 1–7. Retrieved from <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/orientacoes-e-circulares-informativas/orientacao-n-0022020-de-25012020-pdf.aspx>
- Dias, V. M. de C. H., Cunha, C. A. da, Vidal, C. F. de L., Corradi, M. F. D. Ben, Michelin, L., Muglia, V., ... Moura-Neto, J. A. (2020). Orientações sobre Diagnóstico, Tratamento e Isolamento de Pacientes com COVID-19. *Journal of Infection Control*, 9(2), 56–75. Retrieved from <http://jic-abih.com.br/index.php/jic/article/view/295/pdf>
- Evans, R. W. (2001). Diagnostic testing for headache. *Medical Clinics of North America*, 85(4), 865–885. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(05\)70348-5](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(05)70348-5)
- Hong, K. H., Lee, S. W., Kim, T. S., Huh, H. J., Lee, J., Kim, S. Y., ... Yoo, C. K. (2020). Guidelines for laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Annals of Laboratory Medicine*, 40(5), 351–360. <https://doi.org/10.3343alm/2020.40.5.351>
- Islam, K. U., & Iqbal, J. (2020). An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(November), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.560616>
- Ji, T., Liu, Z., Wang, G. Q., Guo, X., Akbar khan, S., Lai, C., ... Zhou, Q. (2020). Detection of COVID-19: A review of the current literature and future perspectives. *Biosensors and Bioelectronics*, 166(January). <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112455>
- Laureano, A. F. S., & Riboldi, M. (2020). The different tests for the diagnosis of COVID-19-a review in Brazil so far. *Jornal Brasileiro de Reproducao Assistida*, 24(3), 340–346. <https://doi.org/10.5935/1518-0557.20200046>
- Magalhães, S. (2020). SARS-CoV-2: Diagnóstico Laboratorial SARS-CoV-2: Laboratory Diagnosis. *Acta Farmacêutica Portuguesa*, 9(9, n1), 32–37.
- Oliveira, J. N. (2020). OPINIÃO E DEBATE O Laboratório de Análises Clínicas na Pandemia COVID-19. Retrieved from <https://healthnews.pt/2020/05/29/a-doenca-profissional-2019-mais-uma-infecao-transmitida-a-profissionais-de-saude-atraves-de-goticulas-do-trato-respiratorio-2/>
- Tahamtan, A., & Ardebili, A. (2020). Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 20(5), 453–454. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437>
- Tripathi, S. C., Deshmukh, V., Patil, A., & Tripathy, J. P. (2020). COVID 19 diagnostic multiplicity and its role in community surveillance and control. *Infezioni in Medicina*, 28(Figure 2), 18–28. <https://doi.org/10.14293/S2199-1006.1.SOR-PPA94RC.v1>
- Viviane Maria de Carvalho Hessel Dias, 1, 2, Marcelo Carneiro, 1 Lessandra Michelin, 2, Claudia Fernanda de Lacerda Vidal, 1, Lucianna Auxi Teixeira Josino da Costa, 1, Carlos Eduardo dos Santos Ferreira, 3, Eliane Aparecida Rosseto-Welter, 3, ... Carrilho, C. M. D. de M. (2020). Testes sorológicos para COVID-19: Interpretação e aplicações práticas. *Journal of Infection Control*, 9(Abr/Jun).
- Xavier, A. R., Silva, J. S., Almeida, J. P. C. L., Conceição, J. F. F., Lacerda, G. S., & Kanaan, S. (2020). COVID-19: manifestações clínicas e laboratoriais na infecção pelo novo coronavírus. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 56, 1–9.
- Younes, N., Al-Sadeq, D. W., Al-Jighefee, H., Younes, S., Al-Jamal, O., Daas, H. I., ... Nasrallah, G. K. (2020). Challenges in Laboratory Diagnosis of the Novel. *Mdpi*, 1–27.
- Zhao, J., Yuan, Q., Wang, H., Liu, W., Liao, X., Su, Y., ... Zhang, Z. (2020). Antibody Responses to SARS-CoV-2 in Patients with Novel Coronavirus Disease 2019. *Clinical Infectious Diseases*, 71(16), 2027–2034. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa344>

Tabela 1 - Características de desempenho de alguns testes RT-PCR. Fonte: Modificado de Chauhan et al., (2020).

Produto	Representante	Limite mínimo de detecção (cópias/ml)	Tempo de reação (horas)	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)
Quest SARS-CoV-2 rRT-PCR	Quest	136	96-120	95	100
2019 – nCoV Real-Time RT-PCR Dx Panel	CDC	1000	24-72	100	100
Cobas SARS-CoV-2 Test Roche	Roche	17-58	24	100 (1.5x)	100
COV IDx Assay	Ipsium	8500	24	100	100
Real Time SARS-CoV-2	Abbott	100	4-6	100 (1-2x)	100
NxTAG CoV Extended Panel Assay	Luminex	5000	4	95 (2x)	100
BD SARS-CoV-2 Reagents	Becton Dickonson	40	2-3	100	100
ePlex SARS- CoV-2 test	GenMark Diagnostics	10	2	94.4	100
ARIES SARS- CoV Assay	Luminex Molecular Diagnostics	1000	2	100	100
COVID 19 genesis Real-Time PCR assay	Primerdesign	330	2	100 (3-5x)	100
Quantivirus SARS-CoV-2 Test Kit	Diacarta	100	2	95	100
QIAstat-Dx Respiratory SARC-Cov-2 panel	Qiagen	500	1	100(1-2x)	100
Xpert Xpress SARS-CoV-2 TEST	Cepheid	250	<1	100 (2x)	100
NeuMoDx SARS-CoV-2 Assay	NeuMoDx	150	<1	100 (1.5x)	100
ID NOW COVID-19 testa	Abbott	125	<1	100 (2-5)	100
Biofere COVID-19 test	BioMerieux-BioFire Defense	330	<1	100	100