

Circular Informativa Conjunta

(Novidades) N.º 003/CD/100.20.200

Data: 27/05/2020

Assunto: **Testes Laboratoriais para SARS-CoV-2; Testes Rápidos**

Para: Divulgação geral

Contacto: Centro de Informação do Medicamento e dos Produtos de Saúde (CIMI); Tel. 21 798 7373;
Fax: 21 111 7552; E-mail: cimi@infarmed.pt; Linha do Medicamento: 800 222 444

A COVID-19 foi declarada pela Organização Mundial de Saúde como pandemia, no dia 11 de março de 2020. Tendo sido estabelecida uma estratégia gradual de levantamento de medidas de confinamento no âmbito do combate à pandemia, continua a impor-se a aplicação de medidas extraordinárias que garantam uma resposta atempada à COVID-19, incluindo a identificação precoce de casos e o respetivo diagnóstico laboratorial.

No seguimento da Orientação 015/2020¹ da DGS, é importante disponibilizar, de forma complementar, informação sobre os testes disponíveis no mercado, no sentido de clarificar a sua indicação e utilização clínicas, tendo por base o conhecimento científico atual e as normas técnicas de instituições de referência europeias.

Em Portugal, os testes de diagnóstico laboratorial para SARS-CoV-2, só podem:

1. Ser comercializados e utilizados se registados no INFARMED, I.P., de acordo com a legislação aplicável;
2. Ser realizados por profissionais de saúde legalmente habilitados de acordo com o Despacho n.º 10009/2019, de 5 novembro e seguindo a Orientação 015/2020 da DGS;
3. Ser realizados em laboratórios hospitalares ou outros com biossegurança de nível 2, e em unidades prestadoras de cuidados de saúde² desde que asseguradas as condições de higiene e biossegurança adequadas³.

¹ Consultar Orientação n.º 015/2020 de 23/03/2020 atualizada a 24/04/2020 COVID-19: Diagnóstico Laboratorial. Disponível em: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/orientacoes-e-circulares-informativas/orientacao-n-0152020-de-23032020-pdf.aspx>

² Estabelecimentos prestadores de cuidados de saúde registados na Entidade Reguladora de Saúde (ERS).

Os testes laboratoriais para SARS-CoV-2 podem ser classificados quanto ao componente biológico detetado (componentes do vírus vs. anticorpos anti-SARS-CoV-2) e quanto ao tipo de tecnologia utilizada (automatizados vs. não automatizados ou rápidos) (Anexo I)⁴.

À data, **o diagnóstico de novos casos de infeção por SARS-CoV-2 deve ser realizado exclusivamente por testes de deteção de componentes do vírus, sendo os testes de biologia molecular (RT-PCR) para a deteção de RNA considerados de referência**, por apresentarem maior fiabilidade^{5,6,7}.

- **Tipos de testes laboratoriais quanto ao componente biológico detetado**

Os testes de diagnóstico laboratorial de SARS-CoV-2, disponíveis atualmente, dividem-se em duas categorias relativamente aos componentes biológicos detetados⁸:

1. Componentes do vírus:

- a) Os testes de biologia molecular (RT-PCR) que detetam o RNA do vírus;
- b) Os testes de antigénio que detetam proteínas, tais como proteínas da superfície do vírus;

2. Anticorpos anti-SARS-CoV-2:

- a) Os testes serológicos que detetam anticorpos (IgA, IgM e/ou IgG) produzidos pelo organismo como resposta à infeção pelo SARS-CoV-2.

Enquanto os testes moleculares e os testes de antigénio são geralmente realizados em amostras do trato respiratório superior e/ou inferior, os testes serológicos utilizam soro, sangue total ou plasma.

³ WHO(2020) Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease (COVID-19). WHO. Disponível em:

[https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-(covid-19))

⁴ Comissão Europeia. Orientação sobre os testes de diagnóstico in vitro para a COVID-19 e o respetivo desempenho, Jornal Oficial da União Europeia C 122 de 15.04.2020

⁵ Consultar Orientação nº 015/2020 de 23/03/2020 atualizada a 24/04/2020 COVID-19: Diagnóstico Laboratorial. Disponível em: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/orientacoes-e-circulares-informativas/orientacao-n-0152020-de-23032020-pdf.aspx>

⁶ WHO (2020). Laboratory Testing for 2019 novel Coronavirus in suspected human cases. WHO. Disponível em:

<https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>

⁷ Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), CDC, 19 março, 2020

⁸ European Commission. Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. Working document of Commission services, 16 April 2020

- **Tipo de testes laboratoriais quanto à tecnologia utilizada**

Quanto ao tipo de tecnologia utilizada, os testes de diagnóstico laboratorial, comercializados com marcação CE, podem dividir-se em dois grupos⁹:

1. Testes automatizados, processados em equipamentos laboratoriais de análise:

- a) Testes de deteção de componentes do vírus (RNA) por biologia molecular:

- i. RT-PCR convencional ou em tempo real (rRT-PCR)¹⁰;
- ii. Baseados em RT-PCR em sistema fechado, em equipamentos específicos, que permitem a obtenção dos resultados num período tempo mais curto (habitualmente menos de 1 hora, conhecidos por testes “rápidos” de rRT-PCR), que os testes de biologia molecular convencional ou em tempo real (indicados na alínea anterior). Apesar disso, estes testes, que podem ser realizados em equipamentos portáteis, não são abrangidos pela definição de “teste rápido” abaixo indicada.

- b) Testes semi-quantitativos de deteção de anticorpos (por exemplo, ELISA).

2. Testes não automatizados ou testes rápidos, que são dispositivos para diagnóstico *in vitro* para a realização de testes únicos ou de pequenas séries, com baixa complexidade de execução técnica, e que permitem a obtenção dos resultados em 10 – 30 minutos^{11,12}:

- a) Testes de deteção de componentes do vírus (proteínas), também designados testes de deteção de antigénio;

- b) Testes qualitativos de deteção de anticorpos (por exemplo, imunocromatografia). Estes testes de menor complexidade tendem a ser menos sensíveis do que os testes semi-quantitativos de deteção de anticorpos.

⁹ Comissão Europeia. Orientação sobre os testes de diagnóstico *in vitro* para a COVID-19 e o respetivo desempenho, Jornal Oficial da União Europeia C 122 de 15.04.2020

¹⁰ **Os testes para a deteção do RNA do SARS-CoV-2 podem incluir como alvo os genes que codificam para a RNA dependente RNA polimerase (RdRp), a nucleoproteína (N), o invólucro (E), a espícula (S), ou para a ORF-1**

¹¹ Comissão Europeia. Orientação sobre os testes de diagnóstico *in vitro* para a COVID-19 e o respetivo desempenho, Jornal Oficial da União Europeia C 122 de 15.04.2020

¹² European Centre for Disease Prevention and Control. An overview of the rapid test situation for COVID-19 diagnosis in the EU/EEA. 1 April 2020. Stockholm: ECDC; 2020. Disponível em:

<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Overview-rapid-test-situation-for-COVID-19-diagnosis-EU-EEA.pdf>

- **Utilização dos testes laboratoriais (Anexo II e III)**

Como qualquer meio complementar de diagnóstico, os resultados dos testes laboratoriais para SARS-CoV-2 devem ser correlacionados com a história clínica do doente e o seu contexto epidemiológico.

À data, **o diagnóstico de novos casos de infeção por SARS-CoV-2 deve ser realizado exclusivamente por testes de deteção de componentes do vírus, sendo os testes de biologia molecular (RT-PCR) para a deteção de RNA viral considerados de referência**, nos termos das normas e orientações da DGS e da presente Circular.

Dependendo da gravidade da doença e de fatores intrínsecos à pessoa infetada (por exemplo: fatores genéticos, resposta do sistema imunitário, comorbilidades, idade, etc.), a excreção e deteção do RNA viral pode ser mais ou menos prolongada.

A probabilidade de um resultado positivo varia com o tipo de amostra biológica, a qualidade da colheita e a dinâmica da carga viral, ou seja, da quantidade de RNA viral presente numa determinada localização anatómica e em cada fase e gravidade da doença. Os estudos publicados até à data, mostram que a probabilidade de um teste positivo decresce com o número de dias após o início dos sintomas.

Adicionalmente, é relevante ter em consideração que a evidência atual mostra que o RNA de SARS-CoV-2 pode ser identificado 1-2 dias antes do início dos sintomas, podendo persistir, nos casos moderados, até 8-12 dias depois do início da doença (embora existam casos reportados de deteção de RNA após o 28.º dia de infeção). Nos casos graves, a dinâmica da carga viral, no que se refere ao período de excreção até a *clearance* viral, pode estar alterada e ser mais prolongada comparativamente com o que acontece nos casos moderados^{13,14}.

A interpretação dos resultados destes testes deve considerar o nível de suspeição clínica para a COVID-19, pelo que num doente com quadro clínico fortemente suspeito um teste negativo só por si não deve constituir prova de exclusão de infeção por SARS-CoV-2.

Os testes de deteção de antigénio, por princípio, têm uma sensibilidade menor do que os testes moleculares (rRT-PCR), particularmente quando a carga viral é mais baixa. Desta forma, no início da

¹³ Liu Y et al. Lancet Infect Dis. 2020 Mar 19:S1473-3099(20)30232-2

¹⁴ Zou L et al. N Engl J Med. 2020 Mar 19;382(12):1177-1179

infecção, a deteção da presença de uma proteína do SARS-CoV-2 pode ocorrer mais tarde do que a identificação do RNA viral por rRT-PCR.

A fase em que com maior probabilidade é possível detetar um antigénio viral num indivíduo infetado, utilizando um teste rápido de deteção de antigénio, é aquela em que a carga viral é tipicamente mais elevada (Anexo III).

Os testes serológicos, automatizados e rápidos, detetam a presença de anticorpos IgA, IgM e IgG para o SARS-CoV-2. Sendo testes de deteção da resposta imunológica, não estão recomendados para o diagnóstico de novos casos de COVID-19. De facto, a resposta imunológica na infeção por SARS-CoV-2 é detetada a partir da segunda semana de infeção, ou seja, cerca de 8 a 10 dias após o início dos sintomas¹⁵. Não obstante, alguns estudos mostraram a identificação de IgM a partir do quinto dia após o início da doença¹⁶.

A seroconversão da IgM e IgG parece ocorrer entre a terceira e quarta semana depois do início da infeção. Depois disso, os títulos de IgM diminuem, comparativamente com a IgG que pode persistir para além das sete semanas após a infeção por SARS-CoV-2^{17,18} (Anexo III).

Até à data, a evidência disponível não permite inferir sobre a natureza e duração dos anticorpos produzidos como resposta à infeção por SARS-CoV-2, em indivíduos sintomáticos ou assintomáticos, e se esses anticorpos conferem imunidade de longa duração.

Por isso, o resultado dos testes de deteção de anticorpos quando interpretados isoladamente não exclui a possibilidade da pessoa estar infetada. Apesar da sua limitada utilidade clínica, estes testes podem ser utilizados em estudos epidemiológicos populacionais (de seroprevalência) e de investigação, como o caso do *Inquérito Serológico Nacional COVID-19*, utilizando testes de deteção de anticorpos específicos, pelo método ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) ou de quimiluminescência, que se baseiam na deteção individual de IgA, IgM, IgG ou de anticorpos totais para monitorizar a imunidade contra o SARS-CoV-2 na população portuguesa.

Relativamente aos testes rápidos é relevante ter em consideração que não podem constituir um critério único na avaliação do estado do doente, pelo que têm de ser interpretados em conjunto com outros dados clínicos e/ou laboratoriais.

¹⁵ Lou B et al. medRxiv March 27, 2020

¹⁶ Sethuraman N et al. JAMA May 6, 2020

¹⁷ To KK-W et al. Lancet Infect Dis. 2020;20(5):565-574

¹⁸ Xiang F et al. Clin Infect Dis. April 19, 2020

Informa-se ainda que o INFARMED, I.P. é a Autoridade Competente para a fiscalização da conformidade dos testes de diagnóstico *in vitro* podendo solicitar uma verificação laboratorial pelo INSA, laboratório de referência nacional no contexto do COVID-19. À DGS compete emitir normas e orientações em matéria de saúde pública.

A Diretora Geral da Saúde

O Presidente do Conselho Diretivo do
INFARMED, I.P.

O Presidente do Conselho Diretivo
do INSA, I.P.

(Graça Freitas)

(Rui Santos Ivo)

(Fernando de Almeida)

Anexo I

Tipos de testes e nível de automatização para o diagnóstico laboratorial da COVID-19

O conhecimento dos testes laboratoriais atualmente disponíveis para o diagnóstico da COVID-19 está ainda em constante evolução. O conhecimento dos diferentes tipos de testes e a sua metodologia associada permite uma caracterização detalhada dos diferentes tipos de testes atualmente disponíveis no mercado. Na Figura 1 são apresentados os diferentes tipos de testes para o diagnóstico laboratorial da COVID-19.

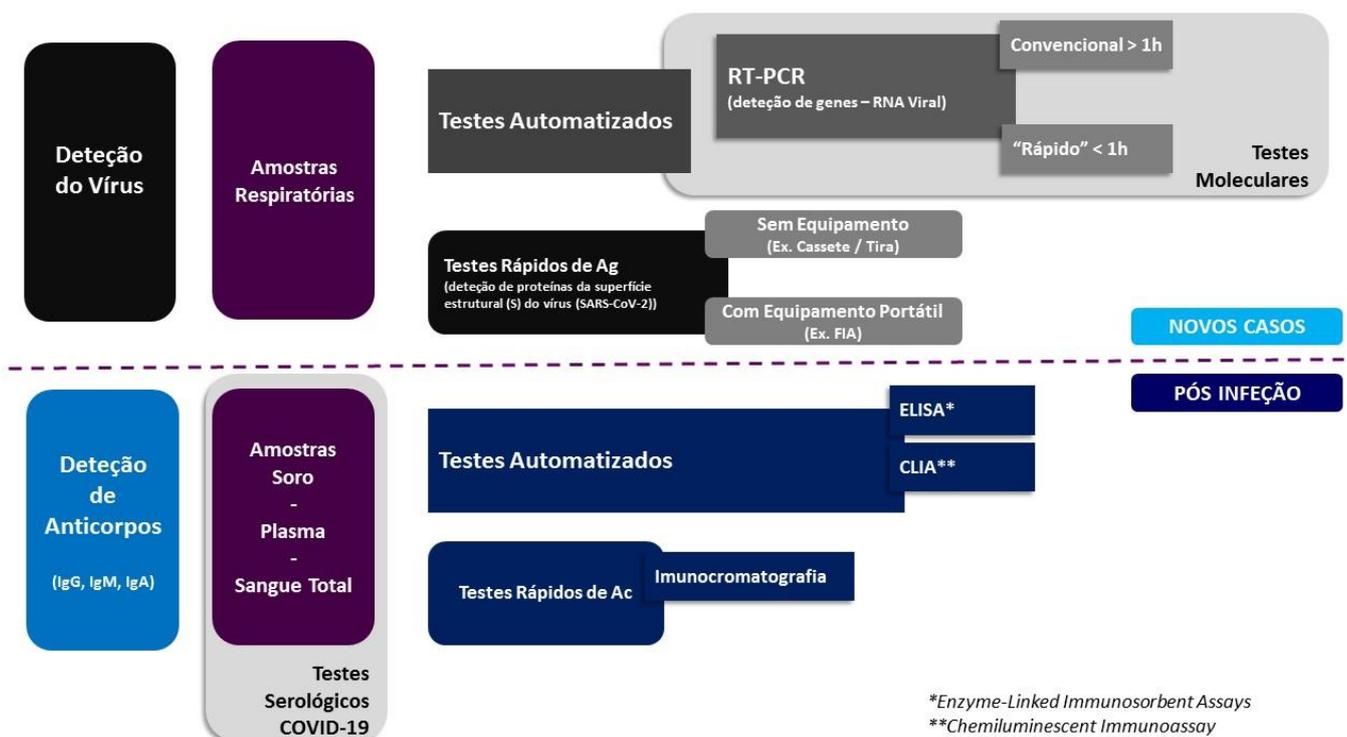


Figura 1. Tipos de testes e nível de automatização para o diagnóstico laboratorial da COVID-19, deteção de novos casos e monitorização da infeção.

Anexo II

Tipo de testes, recomendações e aplicabilidade dos testes laboratoriais da COVID-19

A correta utilização dos testes laboratoriais de SARS-CoV-2 no diagnóstico da COVID-19 é de extrema importância. O RT-PCR é a metodologia de referência para o diagnóstico de novos casos e aplica-se preferencialmente a amostras do trato respiratório. Os testes de deteção de anticorpos avaliam a resposta imunitária do hospedeiro à infeção por SARS-CoV-2, no entanto, à data, face à sua limitada utilidade clínica, só deverão ser utilizados em estudos de investigação, tal como se pode observar na tabela I.

Tabela I. Utilização dos testes laboratoriais para SARS-CoV-2.

| Aplicabilidade | Utilização Clínica | Testes SARS-CoV-2 | Período Ideal de Colheita |
|-------------------------|-----------------------------------|---|---------------------------|
| Diagnóstico | Pessoa sintomática | RT-PCR convencional/tempo real Testes rápidos de Ag ^{a), b)} RT-PCR “rápido” (<1h) ^{b)} | Fase Aguda |
| | Deteção Precoce de Assintomáticos | RT-PCR convencional/tempo real RT-PCR rápido (<1h) ^{b)} | |
| Cura | | RT-PCR convencional/tempo real | Norma 004/2020 |
| Estudos de Investigação | Estudos de Seroprevalência | Deteção anticorpos anti-SARS-CoV-2 (testes automatizados) | Pós-infeção |
| | Outros Estudos de Investigação | RT-PCR convencional/tempo real Testes rápidos de Ag ^{a), b)} RT-PCR rápido” (<1h) ^{b)} Deteção anticorpos anti-SARS-CoV-2 (testes automatizados ou testes rápidos) | |

a) Testes negativos necessitam de confirmação de infeção recente por RT-PCR.
 b) Podem ser considerados em situações particulares, devidamente fundamentadas e tendo em conta que não constituem os testes de referência os resultados devem ser contextualizados e confirmados.

ANEXO III

Testes laboratoriais nas diferentes fases da COVID-19

O resultado dos testes realizados para a deteção de infeção por SARS-CoV-2 depende do tempo decorrido após a infeção e do tipo de teste utilizado (figura 2 e tabela II).

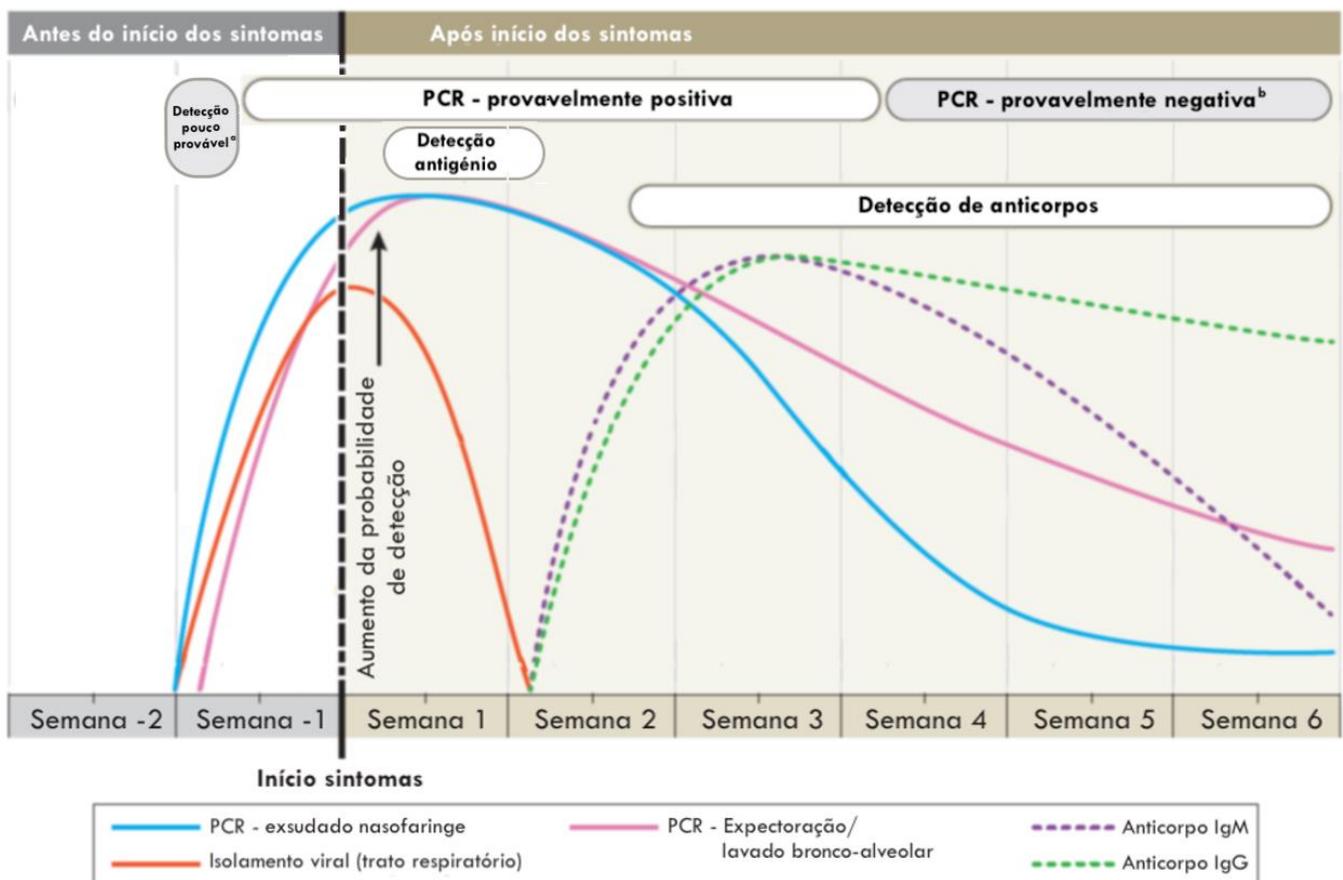


Figura 2. Estimativa da variação da deteção da infeção por SARS-CoV-2 por diferentes testes de diagnóstico ao longo do tempo, relativamente ao início dos sintomas

Figura adaptada de Nandini Sathuraman, *Jama*, 6 maio, 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2765837> (consultado a 17, maio, 2020)

^a A deteção apenas ocorrerá se o doente for seguido proativamente desde a exposição ao vírus.

^b Período em que o resultado da análise de um exsudado nasofaríngeo por PCR tem elevada probabilidade de ser negativo.

Tabela II. Interpretação simplificada para conjugar os resultados dos testes de RT-PCR com os testes rápidos de deteção de antígeno e de anticorpo na COVID-19¹⁹.

| Testes | Resultados | | | | |
|-------------------------------|-----------------|---------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Pré-sintomas | Primeira Fase | Segunda Fase | Terceira Fase | Infeção passada |
| RNA Viral (RT-PCR ou rRT-PCR) | + | + | + | + | - |
| Antigénio | - ^{a)} | + | + | + | - ^{a)} |
| Anticorpos IgM | - | - | + ^{b)} | + ^{b)} | - |
| Anticorpos IgG | - | - | - | + ^{b)} | + ^{b)} |

Evolução da COVID-19 (tempo decorrido) →

- a) A sensibilidade diagnóstica do teste é muito importante para evitar resultados falsos negativos
- b) A especificidade diagnóstica do teste é muito importante para evitar resultados falsos positivos

¹⁹ Adaptado de: *European Commission. Current performance of COVID-19 test methods and devices and proposed performance criteria. Working document of Commission services, 16 April 2020*