

Diretrizes laboratoriais para detecção e diagnóstico de infecção pelo vírus da COVID-19

8 de julho de 2020

Os coronavírus são um grupo de vírus de RNA altamente diversificados, da família *Coronaviridae*, divididos em quatro gêneros: alfa, beta, gama e delta, que causam doenças leves a graves em seres humanos e animais (1-3). Há coronavírus humanos endêmicos, como os alfacoronavírus 229E e NL63 os betacoronavírus OC43 e HKU1, que causam síndrome gripal ou pneumonia em seres humanos (1, 3). No entanto, já surgiram dois coronavírus zoonóticos causadores de doença grave em seres humanos: o coronavírus causador da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) de 2002-2003 e o coronavírus causador da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV) (1-5).

Em janeiro de 2020, o agente etiológico responsável por um *cluster* de casos de pneumonia grave em Wuhan, China, foi identificado como sendo um novo betacoronavírus, diferente do SARS-CoV e do MERS-CoV (6). Em 11 de fevereiro de 2020, o *International Committee on Taxonomy of Viruses* (ICTV) [Comitê Internacional de Taxonomia Viral] anunciou que o vírus havia sido nomeado coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) e, no mesmo dia, a OMS nomeou a doença como doença do novo coronavírus, COVID-19 (8). Para fins de comunicação, vamos nos referir ao vírus como “vírus causador da COVID-19” ou “vírus da COVID-19”. As sequências genômicas completas do vírus da COVID-19 já foram divulgadas e diferentes protocolos de detecção molecular já foram desenvolvidos (9). Considerando-se a circulação atual da COVID-19 na região das Américas, a Organização Pan-Americana da Saúde / Organização Mundial da Saúde (OPAS/OMS) recomenda aos Estados Membros que assegurem a identificação rápida de casos suspeitos, coleta e envio de amostras aos laboratórios de referência, e implementação de protocolos de detecção molecular, de acordo com a capacidade laboratorial.

Em 19 de março de 2020, a OMS atualizou sua orientação provisória sobre testes laboratoriais para a doença do novo coronavírus (COVID-19) em casos suspeitos em seres humanos, incluindo informações sobre coleta e envio de amostras, testes laboratoriais e notificação de casos e resultados de testes (9). A OMS também atualiza as definições de casos suspeitos de COVID-19, conforme necessário (10).

Coleta de amostras e envio apropriado

Coleta de amostras

As amostras devem ser coletadas por profissionais treinados, tendo em vista todas as instruções de biossegurança, incluindo o uso de equipamentos de proteção individual apropriados para precauções padrão, de contato e de aerossol. Mais especificamente, os profissionais devem realizar corretamente a higienização das mãos e usar avental, respirador (N95 ou PFF2), protetor ocular (óculos) ou facial (viseira) e luvas (11).

Amostras respiratórias

As amostras recomendadas são *swabs* nasofaríngeos (NF) ou orofaríngeos (OF), preferencialmente combinados (os *swabs* devem ser colocados e transportados no mesmo tubo com meio de transporte viral ou

universal) (9). Caso os recursos sejam escassos, pode ser usado um único swab (deve-se priorizar o swab nasofaríngeo). Amostras do trato respiratório inferior, incluindo escarro, lavado broncoalveolar e aspirado traqueal também podem ser úteis; no entanto, lavados broncoalveolares e aspirados traqueais devem ser coletados de acordo com critérios médicos, assegurando-se o cumprimento de todas as medidas de biossegurança necessárias (11).

Caso as diretrizes nacionais incluam a amostragem de contatos assintomáticos, recomenda-se coletar amostras do trato respiratório superior (*swabs* NF ou OF).

Devem ser usados *swabs* flocados feitos com materiais sintéticos (incluindo náilon, Dacron ou poliéster); *swabs* de algodão devem ser evitados. Protocolos para produção interna de meios de transporte viral estão disponíveis mediante solicitação ao Escritório Regional da OPAS. Além disso, solução salina estéril ou solução preservante (por ex., *DNA/RNA shield*) podem ser usadas caso não haja meios de transporte viral disponíveis (ver abaixo as considerações sobre transporte de amostras).

Envio de amostras

Amostras respiratórias devem ser mantidas refrigeradas (4-8°C) e enviadas ao laboratório, onde serão processadas até no máximo 24-72 horas após a coleta. Caso as amostras não possam ser enviadas nesse período, recomenda-se congelá-las a -70°C (ou menos) até o momento do envio (assegurando-se a manutenção da cadeia fria). Caso os *swabs* estejam em solução salina estéril em vez de meio de transporte viral, o envio deve ser ainda mais rápido.

O envio de amostras suspeitas deve estar em conformidade com os regulamentos nacionais e usar, no mínimo, um sistema de embalagem tripla básica (12). Além disso, remessas a laboratórios de referência ou centros colaboradores fora do país devem atender aos padrões internacionais para Substâncias Biológicas, Categoria B (13).

Amostras alternativas

O vírus da COVID-19, assim como o SARS-CoV e o MERS-CoV, já foi detectado em outros tipos de amostra, como fezes e sangue (9). No entanto, a dinâmica viral nessas amostras ainda não foi totalmente caracterizada. Em casos fatais, amostras de tecido pulmonar ou trato respiratório também podem ser úteis para detecção molecular, contanto que existam condições apropriadas para realização da necropsia, principalmente no tocante à proteção respiratória. Amostras de sangue agudas e convalescentes podem ser úteis na medida em que testes sorológicos se tornam disponíveis (ver abaixo).

A saliva também já foi proposta como amostra alternativa, principalmente porque pode ser facilmente coletada de pacientes sem a necessidade de procedimentos invasivos ou desconfortáveis, minimizando o potencial de exposição dos trabalhadores da saúde (14-16). Porém, há poucas publicações corroborando o uso de amostras de saliva para detecção da COVID-19; ainda são necessários mais dados de validação e maiores conjuntos de dados. Por isso, a implementação desse tipo de amostra ainda não é recomendada.

Finalmente, o agrupamento de amostras em *pools* já foi proposto como alternativa para reduzir o número de testes necessários para rastreamento (17). No entanto, é importante notar que a sensibilidade da testagem pode diminuir, resultando em possíveis resultados falso-negativos. Além disso, embora possa ser

útil quando a prevalência de COVID-19 na população é baixa, assim que se estabelece a transmissão comunitária, essa estratégia pode gerar um ônus, já que os *pools* serão provavelmente positivos. Portanto, o uso de *pools* de amostras para fins de diagnóstico de casos individuais deve ser avaliado com cautela.

Testes laboratoriais

As diretrizes de biossegurança para o manuseio de amostras suspeitas no laboratório foram publicadas em outros documentos (13, 19).

Métodos moleculares

A confirmação de rotina de casos da COVID-19 baseia-se na detecção de ácido nucleico (RNA) do vírus da COVID-19 usando testes de RT-PCR em tempo real.

Extração de RNA

O RNA pode ser extraído das amostras mencionadas acima usando-se protocolos ou *kits* de extração convencionais. No geral, a etapa de lise da amostra durante a extração de RNA inativa todo e qualquer vírus vivo. Sendo assim, as amostras submetidas a lise são geralmente consideradas não infecciosas. A inativação do vírus da COVID-19 pela lise das amostras já foi verificada para alguns dos *kits* comerciais (20).

Amostras de escarro requerem liquefação antes da extração molecular (21), enquanto amostras de tecido requerem lise e homogeneização.

Protocolos de detecção molecular

A OMS disponibiliza diversos protocolos de diagnóstico molecular (usando RT-PCR) no *link* a seguir: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

Reiteramos que nenhum dos nomes de fornecedores e fabricantes incluídos nos protocolos são favorecidos/endossados pela OMS. Além disso, alguns desses protocolos ainda não foram validados pelo processo da OMS.

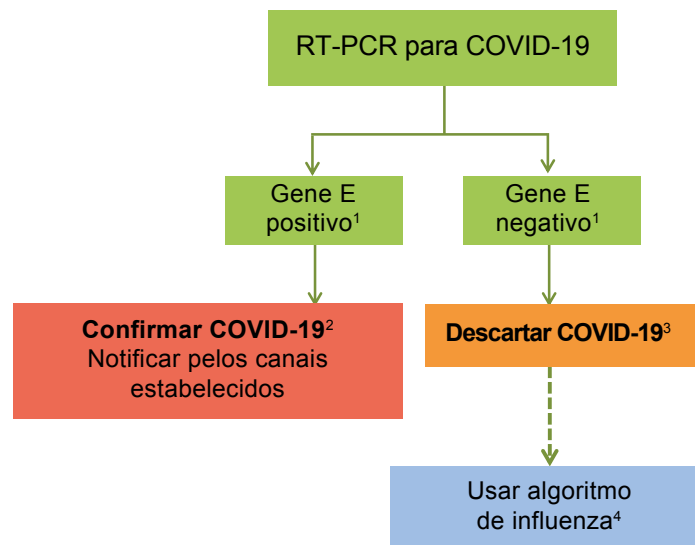
Por meio do trabalho dos Estados Membros da OPAS, todos os laboratórios nacionais com capacidade de realizar testes moleculares, incluindo os Centros Nacionais de Influenza (CNIs), foram treinados no uso do primeiro protocolo disponibilizado pela OMS, desenvolvido pelo Instituto de Virologia Charité – Universitätsmedizin Berlin, Berlim, Alemanha. A avaliação do protocolo foi publicada (22) e um protocolo de trabalho foi disponibilizado no *link* a seguir: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/protocol-v2-1.pdf>

O protocolo baseia-se na detecção de dois alvos no genoma do vírus: o gene E e o gene RdRP (duas sondas, P1 e P2, foram desenvolvidas para detecção do gene RdRP). O teste E é específico para todos os vírus do subgênero *Sarbecovirus* (por ex., SARS-CoV, vírus da COVID-19 e vírus relacionados de morcegos), enquanto o teste de RdRP com a sonda P2 detecta apenas o vírus da COVID-19. No entanto, **o único *Sarbecovirus* que circula atualmente em seres humanos é o vírus da COVID-19**. Sendo assim, um resultado positivo no teste E confirma o caso de COVID-19. Reagentes específicos (*primers*, sondas e controles positivos) e protocolos de trabalho para os testes E e RdRP já foram distribuídos pela OPAS/OMS em toda a Região.

A detecção de um único alvo genético é suficiente para confirmação laboratorial dos casos. Embora a recomendação inicial fosse detectar dois alvos genéticos diferentes (por ex., detecção do gene E seguida por detecção do gene RdRP), um algoritmo mais simples permite aumentar a capacidade laboratorial, sem prejuízo da precisão, já que são utilizados os testes altamente específicos do protocolo Charité. Conforme os procedimentos padrão, os laboratórios devem garantir que todos os parâmetros de controle de qualidade dos testes (controles negativos e positivos, forma das curvas de amplificação) estejam ótimos antes de divulgar os resultados. Tanto o teste do gene E quanto do gene RdRP podem ser usados para confirmação laboratorial; entretanto, o teste do gene E demonstrou uma sensibilidade ligeiramente mais alta e, por isso, **recomendamos que o teste do gene E seja priorizado como alvo selecionado** (Figura 1).

Outros testes moleculares estão disponíveis e podem ser realizados em plataformas abertas (“manuais”) ou fechadas (isto é, com kits que funcionam apenas em plataformas privadas e automatizadas). Esses testes incluem aqueles listados na *WHO Emergency Use Listing* [Listagem de Uso Emergencial da OMS] (23), avaliados de forma independente pela FIND (*Foundation for Innovative New Diagnostics* [Fundação para Novos Métodos Diagnósticos Inovadores], um Centro Colaborador da OMS) e/ou aprovados para comercialização pelas autoridades regulatórias nacionais (em particular, aquelas consideradas pela OMS como SRA [*Stringent Regulatory Authority* ou, em português, Autoridades Regulatórias Rigorosas] em seu processo de pré-qualificação rápida de testes de diagnóstico *in vitro*). Sob a supervisão das autoridades nacionais de saúde e com o apoio técnico dos laboratórios nacionais de saúde pública e Centros Nacionais de Influenza, esses testes podem ser usados em serviços de saúde com a capacidade necessária ou em laboratórios descentralizados.

Figura 1. Algoritmo de detecção molecular



¹ Usando-se o protocolo Charité. Caso seja usado um protocolo diferente, seguir os critérios de positividade indicados.

² Como não existem outros *Sarbecovirus* circulando globalmente, um resultado positivo no teste do gene E do protocolo Charité confirma a detecção.

³ Presumindo-se que a amostra tenha sido coletada da forma correta, e que todos os processos de garantia de qualidade tenham sido seguidos. Informações clínicas e epidemiológicas também devem ser consideradas antes de se descartar o caso.

⁴ Dependendo dos protocolos de vigilância e dos recursos disponíveis. Outros vírus respiratórios também podem ser testados.

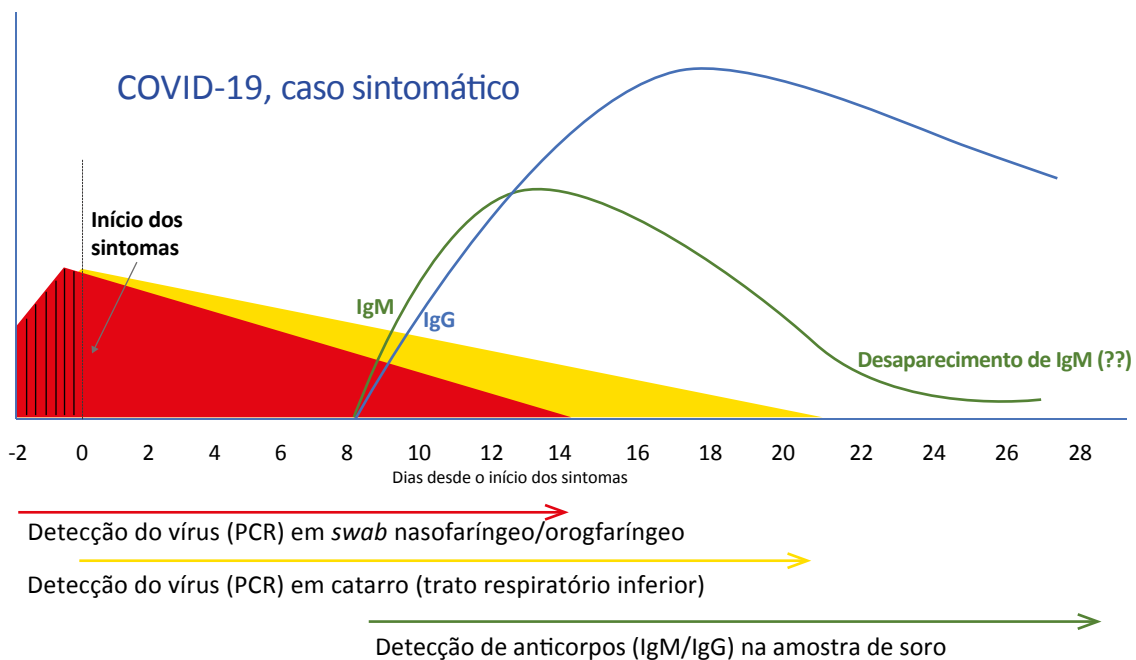
Interpretação dos resultados¹

Embora a dinâmica da infecção, incluindo secreção viral em diferentes fluidos, ainda esteja em estudo, até o momento já foi possível determinar que o vírus pode ser detectado a partir de 48 horas antes do início dos sintomas (casos pré-sintomáticos) e até 12-14 dias (no mínimo 6-7 dias) após em amostras do trato respiratório superior (*swabs* NF/OF), e até 20 dias (ou mais) em amostras do trato respiratório inferior, incluindo escarro, aspirado traqueal, lavado broncoalveolar etc. (Figura 2).

Em um indivíduo identificado como contato de um caso confirmado, o valor agregado pela realização de testes laboratoriais deve ser avaliado, lembrando-se que, independentemente do resultado, a recomendação para o contato é de 14 dias de quarentena (desde o dia do último contato com o caso). Caso seja realizado teste molecular, um resultado negativo não descarta contato prévio e nem a possibilidade de o contato estar no período de incubação. Caso o resultado seja positivo, o caso pode ser assintomático ou pré-sintomático e, independentemente disso, deve ser isolado.

Em um indivíduo assintomático, como não existem dados que possam ser usados como referência, um resultado negativo no teste molecular pode significar que a quantidade de vírus não é suficiente para ser detectada, que o indivíduo se encontra no período pós-infecção, ou simplesmente que o indivíduo nunca foi infectado. Portanto, um resultado negativo não descarta uma possível infecção. Caso um resultado positivo seja obtido por detecção molecular, como parte de um trabalho de vigilância ativa (trabalhadores da saúde, cuidadores em casas de repouso, etc.), o resultado configura um caso assintomático e o indivíduo deve ser isolado.

Figura 2. Dinâmica de infecção pela COVID-19 (com base nos dados atualmente disponíveis)



¹ Esta seção baseia-se no documento da OPAS *Interpretation of laboratory results for COVID-19 diagnosis* [Interpretação de resultados laboratoriais para diagnóstico da COVID-19], disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/52138>

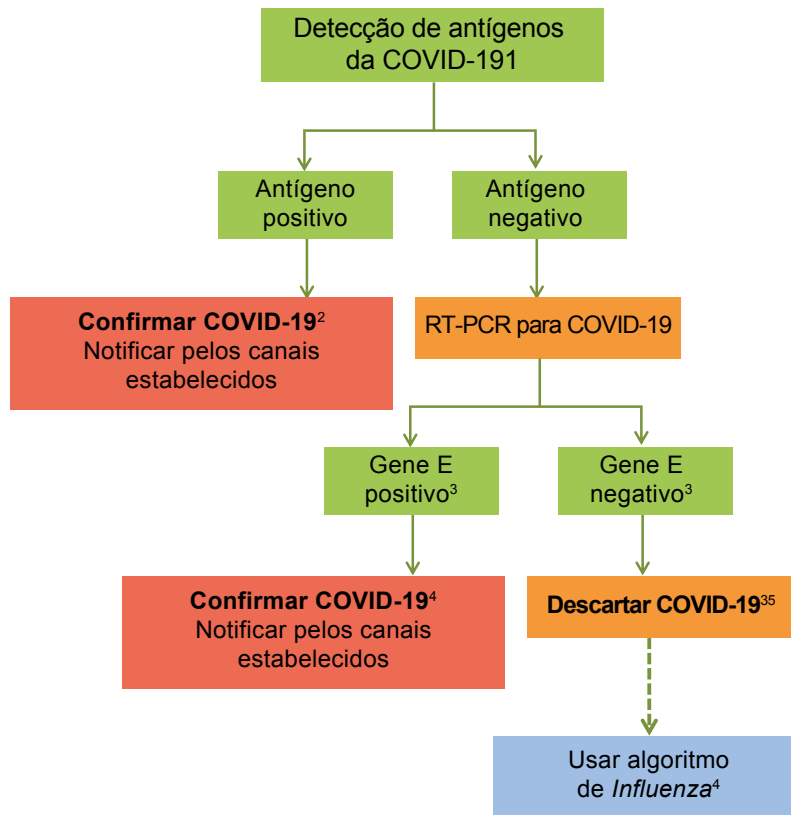
A detecção molecular do vírus da COVID-19 usando protocolos bem desenhados é geralmente bastante específica; portanto, um resultado positivo confirma a detecção do vírus. Por outro lado, um resultado negativo pode nem sempre significar ausência de infecção pelo vírus da COVID-19 (9). Há diversos motivos que explicam um resultado negativo em uma pessoa infectada com o vírus da COVID-19, entre os quais os principais são:

- Qualidade, manuseio, transporte e/ou armazenamento insatisfatórios da amostra (para controlar esses fatores, pode-se realizar detecção qualitativa de um gene de manutenção humano [por ex., teste para RNase P (25)]).
- Extração insatisfatória/malsucedida de amostra, presença de inibidores de PCR no RNA extraído (para controlar esses fatores, pode-se usar um controle de extração ou detecção de um gene de manutenção, conforme mencionado acima).
- Amostra coletada em um momento em que o paciente não estava excretando quantidades suficientes de vírus, por exemplo, muito no começo ou muito no final da infecção (este ponto é particularmente relevante, já que a dinâmica de presença do vírus em diferentes tipos de amostras ainda não foi totalmente estabelecida).
- Como em qualquer ensaio de detecção molecular, mutações virais nas regiões visadas pelos testes podem afetar a sensibilidade de detecção.

Detecção de antígenos

Nos primeiros dias após o início dos sintomas (aproximadamente 1 a 5), proteínas virais (antígenos) são geradas e podem ser detectadas por diferentes testes (por ex., ELISA, imunofluorescência ou até mesmo testes rápidos). No entanto, a dinâmica de produção e secreção dessas proteínas ainda não foi totalmente estabelecida. Em termos gerais, os testes de detecção de antígenos apresentam especificidade aceitável (dependendo do teste) e podem, portanto, ser usados como critério de confirmação (combinados às definições de casos e à história clínica e epidemiológica) e tomada de decisões de saúde pública (por ex., isolamento). No entanto, esses testes (principalmente o formato de testes rápidos), muitas vezes, têm sensibilidade mais baixa que a dos testes moleculares. Portanto, um resultado negativo (em qualquer estágio da infecção) **não deve ser usado como critério para se descartar um caso** e, sendo assim, recomenda-se a realização de testes adicionais com métodos moleculares (Figura 3).

Figura 3. Algoritmo baseado na detecção de antígenos



¹ ELISA ou testes rápidos com validação independente e aprovação regulatória.

² A especificidade do ensaio (incluindo possibilidade de reatividade cruzada com outros coronavírus humanos) deve ser levada em consideração.

³ Usando-se o protocolo Charité. Caso seja usado um protocolo diferente, seguir os critérios de positividade indicados.

⁴ Como não existem outros *Sarbecovirus* circulando globalmente, um resultado positivo no teste do gene E do protocolo Charité confirma a detecção.

⁵ Presumindo-se que a amostra tenha sido coletada da forma correta, e que todos os processos de garantia de qualidade tenham sido seguidos. Informações clínicas e epidemiológicas também devem ser consideradas antes de se descartar o caso.

⁶ Dependendo dos protocolos de vigilância e dos recursos disponíveis. Outros vírus respiratórios também podem ser testados.

Os testes de detecção de antígenos devem ser submetidos à avaliação independente para estabelecimento de seu desempenho diagnóstico e embasamento das modalidades de implementação. A custo-efetividade também deve ser analisada em detalhes. Considerando-se a provável perda de sensibilidade, recomendamos que esses testes sejam usados apenas para testagem de baixa prioridade, de acordo com as diretrizes nacionais, e não para casos graves/hospitalizados.

Métodos sorológicos

Os testes sorológicos detectam anticorpos (IgM, IgG ou IgA) gerados pelos indivíduos como parte da resposta imunológica ao vírus da COVID-19. Normalmente, a maior parte dos anticorpos produzidos são contra a proteína mais abundante do vírus, a do nucleocapsídeo (N). Portanto, testes que detectam anticorpos contra a referida proteína poderiam ser mais sensíveis. No entanto, anticorpos que têm como alvo a proteína que se liga aos receptores celulares (proteína S) são geralmente mais específicos. Portanto, o uso de testes que detectam anticorpos IgG e/ou IgM contra esses dois antígenos pode levar a um melhor

desempenho. Independentemente de qualquer coisa, esses anticorpos podem apresentar reação cruzada com o SARS-CoV, e mesmo com outros coronavírus humanos (26).

Como os anticorpos (IgM/IgG) contra o vírus são detectáveis somente em torno do sétimo dia após o início dos sintomas (em aproximadamente 50% dos casos), um resultado negativo na sorologia durante os primeiros 7 dias de doença não pode ser usado como critério para se descartar um caso (27). A sensibilidade na detecção de anticorpos totais aumenta a partir da segunda semana após o início dos sintomas; e no décimo quarto dia, mais de 90% dos pacientes já desenvolveram anticorpos (detectáveis por ELISA). Porém, a detecção de anticorpos indica apenas que houve contato prévio com o vírus, mas não permite definir o momento em que o contato ocorreu. Por exemplo, se um paciente que teve contato prévio com o vírus (e que não tenha ficado necessariamente doente) for posteriormente infectado por outro patógeno circulante que também causa sintomas respiratórios (influenza ou outro patógeno), este apresentará resultado positivo para anticorpos contra COVID-19, levando a um diagnóstico incorreto. Por isso, o uso somente da sorologia para confirmar um caso deve ser avaliado com cautela.

Por outro lado, é importante observar que a presença de anticorpos não indica necessariamente proteção. A única forma de inferir a capacidade de neutralização dos anticorpos seria por meio de um teste de neutralização por redução de placas (em inglês, *plaque reduction neutralization test*, ou PRNT). Ainda assim, a duração desses anticorpos ao longo do tempo e sua capacidade de proteção ainda não foram totalmente estabelecidas.

Por esses motivos, testes sorológicos (tanto ELISA quanto testes rápidos) **não são considerados como testes diagnósticos**, e os resultados destes devem ser cuidadosamente avaliados à luz das informações clínicas, dos resultados de outros testes e do contexto epidemiológico. Portanto, a implementação deve se focar principalmente em pesquisas epidemiológicas e estudos de soroprevalência.

Muitos produtos já estão sendo comercializados para detecção de anticorpos (IgM e/ou IgG) induzidos pelo vírus da COVID-19, inclusive testes rápidos. Todo e qualquer teste precisa ser validado e o respectivo desempenho avaliado em termos de especificidade e sensibilidade. Atualmente, e por solicitação da OMS, existem processos de avaliação e eventual validação em andamento para alguns desses testes. Embora já tenham sido gerados dados preliminares de validação para ensaios ELISA e testes rápidos, os resultados baseiam-se em conjuntos de dados limitados, e nem todos usaram painéis bem caracterizados de amostras de pacientes com COVID-19.

Testes rápidos de diagnóstico baseados em detecção de anticorpos no hospedeiro

Até o momento não existem testes rápidos (imunocromatografia, detecção ouro coloidal ou outros formatos) que tenham sido formalmente validados. Além de todas as limitações descritas acima para os testes sorológicos, os testes rápidos, em geral, apresentam sensibilidade mais baixa. Portanto, com base nos dados atuais, **a OPAS/OMS não recomenda o uso de testes rápidos de detecção de anticorpos para atendimento a pacientes ou diagnóstico da COVID-19** (28). A utilidade desses testes na vigilância e investigação epidemiológica ainda não foi estabelecida.

Testagem de influenza no contexto da COVID-19

A influenza é uma ameaça persistente e faz-se necessária vigilância contínua para detecção do surgimento de vírus influenza zoonóticos e não sazonais com potencial pandêmico (29). Portanto, **a detecção de influenza não pode ser interrompida, e os laboratórios devem seguir o algoritmo de testagem de influenza recomendado pela OPAS** para vigilância de rotina de influenza, principalmente para casos incomuns de infecção respiratória aguda grave.

Reforço da capacidade e das redes de laboratórios

Todos os laboratórios nacionais de saúde pública com capacidade de diagnóstico molecular, incluindo os CNIs, já implementaram a detecção do vírus da COVID-19. Os laboratórios precisam garantir a disponibilidade de recursos humanos e insumos genéricos (por ex., kits de extração e enzimas de RT-PCR) para detecção do vírus da COVID-19, e se planejar para possíveis picos de demanda por testes laboratoriais.

Países que não tenham capacidade de diagnóstico molecular para implementar detecção do vírus da COVID-19 devem enviar as amostras clínicas suspeitas (que cumpram rigorosamente as definições de casos) a um laboratório de referência. A lista de laboratórios de referência da OMS que oferecem testes confirmatórios está disponível em <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/laboratory-guidance>

Nas Américas, há três laboratórios de referência da OMS para o vírus da COVID-19:

- Laboratório de Vírus Respiratórios e Sarampo, Fiocruz, Rio de Janeiro, Brasil.
- Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos (InDRE), Cidade do México, México.
- Respiratory Viruses Diagnostic Laboratory, US CDC, Atlanta, EUA.

Entre em contato com a OPAS antes de encaminhar amostras aos laboratórios de referência da OMS.

Vigilância genômica

Desde a caracterização genômica inicial do vírus da COVID-19, foram encontradas divergências em diferentes *subclades* (6). **Mutações são naturalmente esperadas no processo de evolução do vírus.** Na verdade, algumas mutações específicas definem as *subclades* virais circulantes. Embora algumas dessas mutações tenham sido avaliadas quanto a uma maior infectividade ou virulência (30), até o momento, **não há evidências suficientes de que alguns vírus da COVID-19 circulantes apresentam maior virulência.**

Ainda assim, são necessárias mais informações genéticas sobre os vírus da COVID-19 circulantes para se estabelecerem padrões de dispersão e evolução. Portanto, plataformas de sequenciamento podem ser usadas para caracterização genética do vírus da COVID-19 em laboratórios com capacidade de sequenciamento de Sanger ou de próxima geração. Esses laboratórios são incentivados a sequenciar amostras positivas assim que possível, e compartilhar informações genéticas por meio da *Global Initiative on Sharing All Influenza Data Platform (GISAID)* [Plataforma de iniciativa global para compartilhamento de dados para todos os tipos de influenza] (6). A OPAS está trabalhando para reforçar a rede de sequenciamento genômico da COVID-19 na região das Américas, para que dados genômicos sejam disponibilizados com mais agilidade na plataforma GISAID. A *COVID-19 Genomic Surveillance Regional Network* [Rede Regional de Vigilância Genômica da COVID-19] está aberta a todos os países das Américas e conta com

dois Laboratórios Regionais de Sequenciamento (Fiocruz, Brasil e Instituto de Salud Pública de Chile) para laboratórios que necessitem de sequenciamento externo.

Notificação de dados

De acordo com o Regulamento Sanitário Internacional (RSI), todos os casos confirmados de COVID-19 devem ser notificados em no máximo 24 horas, pelos canais oficiais do RSI (10).

Além disso, todos os resultados positivos e negativos de COVID-19 devem ser notificados no banco de dados FluNet, enviado semanalmente à OPAS/OMS. Planilhas atualizadas do FluNet, com o acréscimo de uma nova coluna para notificação da COVID-19, já foram enviadas aos países, para substituição da versão anterior. Para mais informações, entre em contato com flu@paho.org.

Referências

1. Azhar EI, Hui DSC, Memish ZA, Drosten C, Zumla A. The Middle East Respiratory Syndrome (MERS). *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(4):891-905.
2. Drosten C, Preiser W, Gunther S, Schmitz H, Doerr HW. Severe acute respiratory syndrome: identification of the etiological agent. *Trends Mol Med.* 2003;9(8):325-7.
3. Hui DSC, Zumla A. Severe Acute Respiratory Syndrome: Historical, Epidemiologic, and Clinical Features. *Infect Dis Clin North Am.* 2019;33(4):869-89.
4. de Wit E, van Doremalen N, Falzarano D, Munster VJ. SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2016;14(8):523-34.
5. Hilgenfeld R, Peiris M. From SARS to MERS: 10 years of research on highly pathogenic human coronaviruses. *Antiviral Res.* 2013;100(1):286-95.
6. Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID). Genomic epidemiology of hCoV-19 2020. Disponível em: <https://www.gisaid.org/epiflu-applications/next-hcov-19-app/>.
7. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS, de Groot RJ, Drosten C, Gulyaeva AA, et al. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: The species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group. *bioRxiv.* 2020:2020.02.07.937862.
8. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
9. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (COVID-19) in suspected human cases: interim guidance. WHO/COVID-19/laboratory/2020.5. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>.
10. World Health Organization. Global Surveillance for human infection with coronavirus disease (COVID- 2019), Interim guidance. WHO/2019-nCoV/SurveillanceGuidance/2020.6. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/surveillance-and-case-definitions>.

11. Pan American Health Organization / World Health Organization. Requirements and technical specifications of personal protective equipment (PPE) for the novel coronavirus (2019-ncov) in healthcare settings, Interim recommendations. Washington, DC: PAHO / WHO; 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/requirements-and-technical-specifications-personal-protective-equipment-ppe-novel>.
12. World Health Organization. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019– 2020. Applicable as from 1 January 2019. Geneva: WHO; 2019. Disponível em: <https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/en/>.
13. Pan American Health Organization / World Health Organization. Interim laboratory biosafety guidelines for the handling and transport of samples associated with the novel coronavirus 2019 (2019- nCoV). Washington, DC: PAHO / WHO; 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/documents/interim-laboratory-biosafety-guidelines-handling-and-transport-samples-associated-novel>.
14. Alizargar J, Etemadi Sh M, Aghamohammadi M, Hatefi S. Saliva samples as an alternative for novel coronavirus (COVID-19) diagnosis. J Formos Med Assoc. 2020.
15. Azzi L, Carcano G, Gianfagna F, Grossi P, Gasperina DD, Genoni A, et al. Saliva is a reliable tool to detect SARS-CoV-2. J Infect. 2020;81(1):e45-e50.
16. To KK, Tsang OT, Chik-Yan Yip C, Chan KH, Wu TC, Chan JMC, et al. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. Clin Infect Dis. 2020.
17. Hogan CA, Sahoo MK, Pinsky BA. Sample Pooling as a Strategy to Detect Community Transmission of SARS-CoV-2. JAMA. 2020.
18. Yelin I, Aharony N, Shaer Tamar E, Argoetti A, Messer E, Berenbaum D, et al. Evaluation of COVID-19 RT-qPCR test in multi-sample pools. Clin Infect Dis. 2020.
19. World Health Organization. Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). WHO/WPE/GIH/2020.3. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: [https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-\(covid-19\)](https://www.who.int/publications-detail/laboratory-biosafety-guidance-related-to-coronavirus-disease-2019-(covid-19)).
20. Centers for Disease Control and Prevention. CDC 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-Time RT- PCR Diagnostic Panel, Instructions for Use. Atlanta: CDC; 2020. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/134922/download>.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Processing of Sputum Specimens for Nucleic Acid Extraction. Atlanta: CDC; 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/processing-sputum-specimens.pdf>.
22. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DKW, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill. 2020;25(3).
23. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak – Emergency Use Listing Procedure (EUL) announcement. Geneva: CDC; 2020 [Disponível em: https://www.who.int/diagnostics_laboratory/EUL/en/].
24. FIND. SARS-CoV-2 Molecular Assay Evaluation: Results. 2020 [Disponível em: <https://www.finddx.org/covid-19/sarscov2-eval-molecular/molecular-eval-results/>].

25. Centers for Disease Control and Prevention. CDC protocol of realtime RTPCR for swine influenza A(H1N1). Geneva: WHO; 2009. Disponível em: https://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCrealtimeRTPCRprotocol_20090428.pdf.
26. Meyer B, Drosten C, Muller MA. Serological assays for emerging coronaviruses: challenges and pitfalls. Virus Res. 2014;194:175-83.
27. Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. JAMA. 2020.
28. World Health Organization. Advice on the use of point-of-care immunodiagnostic tests for COVID-19. Scientific brief. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/commentaries/detail/advice-on-the-use-of-point-of-care-immunodiagnostic-tests-for-covid-19>.
29. World Health Organization. Preparing GISRS for the upcoming influenza seasons during the COVID-19 pandemic – practical considerations. Geneva: WHO; 2020. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/332198/WHO-2019-nCoV-Preparing_GISRS-2020.1-eng.pdf.
30. Korber B, Fischer W, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. Tracking changes in SARS-CoV-2 Spike: evidence that D614G increases infectivity of the COVID-19 virus. Cell. 2020.

© **Organização Pan-Americana da Saúde 2020.**

Alguns direitos reservados. Esta obra está disponível sob a licença [CC BY-NC-SA 3.0 IGO](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

Número de referência: OPAS/IMS/PHE/COVID-19/20-0038