
***ACURÁCIA DO TESTE DE REAÇÃO EM CADEIA POR POLIMERASE (PCR), NO
DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME RESPIRATÓRIA AGUDA POR CORONAVÍRUS: REVISÃO
SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE***

O Projeto Diretrizes, uma iniciativa da Associação Médica Brasileira, visa combinar informações da área médica para padronizar as condutas, e para auxiliar no raciocínio e na tomada de decisões dos médicos. As informações fornecidas por esse Projeto devem ser avaliadas criticamente pelo médico responsável pela conduta que será adotada, dependendo das condições e do quadro clínico de cada paciente.

Elaboração: julho de 2020.

Autoria: Associação Médica Brasileira.

Participantes: Idevaldo Floriano¹, Antônio Silvinato¹, Wanderley M. Bernardo², João C. Reis¹, Gabriel Soledade¹.

Introdução

O primeiro caso de paciente com diagnóstico de síndrome respiratória aguda por coronavírus (SARS-COV-2), na atual pandemia, foi relatado em janeiro de 2020, quando um paciente morador da cidade de Wuhan, província de Hubei, na China, foi internado no hospital central em dezembro de 2019⁽¹⁾. Pacientes acometidos pelo coronavírus em 2019 (COVID-19) podem ser assintomáticos, apresentar sintomas leves (tosse, dor em garganta, febre, diarreia, mialgia, anosmia), moderado (fraqueza, mialgia, dispneia) ou graves com insuficiência respiratória aguda, síndrome do desconforto respiratório agudo e insuficiência renal aguda⁽²⁾. A taxa de mortalidade pode chegar a 0,5%⁽³⁾.

O "novo coronavírus", que pertence à família *Coronaviridae*, tem como material genético o ácido ribonucleico (RNA) e é conhecido por causar síndromes gripais e entéricas desde 2003. É associado a síndrome respiratória aguda severa (*Severe Acute Respiratory Syndrome - SARS*)⁽⁴⁾ na Ásia, com taxas de mortalidade de 8,7%, (chegou a 50% para pessoas acima de 60 anos), e no Oriente Médio (*Meridian East Respiratory Syndrome - MERS*) em 2013 com 40% de mortalidade⁽⁵⁾.

O diagnóstico etiológico da SARS-COV-2, atualmente, é realizado através da técnica de reação em cadeia por polimerase (PCR) para detecção do RNA viral na amostra; ensaio de imunoabsorção enzimática (ELIZA) para detectar a presença de anticorpos no soro (testes rápidos para detectar antígenos ou anticorpos)⁽⁶⁾ e tomografia computadorizada⁽⁷⁾. A técnica PCR tem melhor acurácia quando realizada entre 2 e 5 dias do início dos sintomas, com coleta de material por swab nasal/oral ou escarro⁽⁸⁻¹¹⁾; testes sorológicos podem ser coletados a partir do sétimo dia. (Figura 1).

A evolução da técnica PCR propiciou redução no tempo de execução do exame e quantificação. A reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) utiliza *primers*, com alvo para região upE e ORF1a do genoma do coronavírus⁽¹²⁻¹³⁾. Durante a técnica PCR, a transcrição reversa é capaz de monitorar o progresso do processo na medida em que ocorre (em tempo real), sendo os dados são coletados ao longo do exame. O "Sistema TaqMan®" utiliza uma sonda fluorescente para quantificação e o "Sistema SYBR Green I®" utiliza um corante que se liga especificamente ao DNA e se acumula durante os ciclos, para quantificação. Na atualidade temos outros aperfeiçoamentos da técnica PCR que visam diminuição de custos e facilidades na execução da técnica.

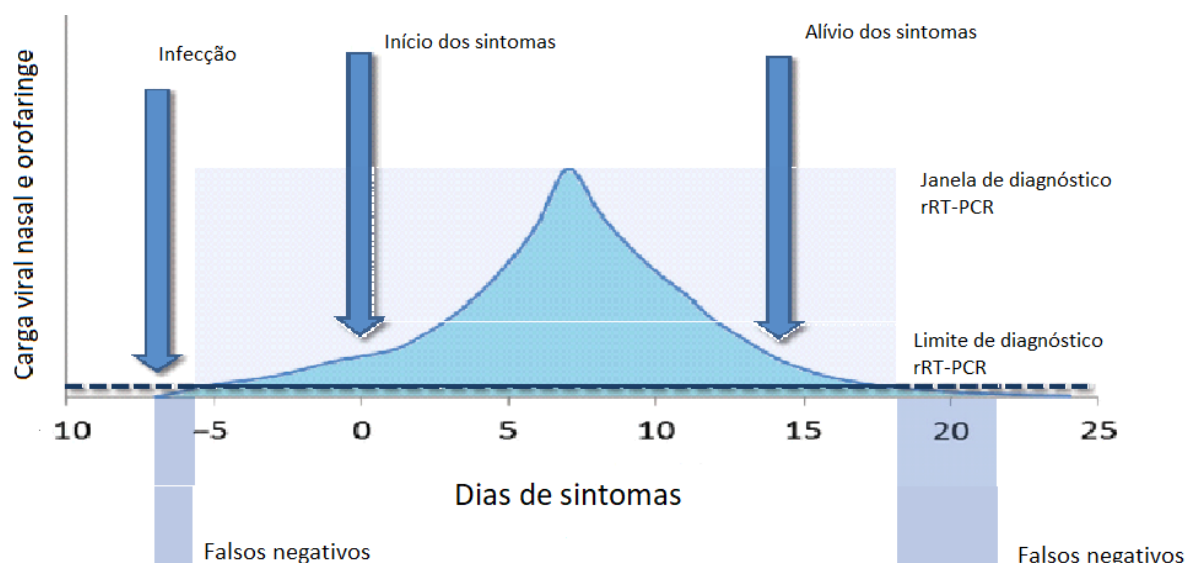


Figura 1. Correspondência entre carga viral e infecção por coronavírus 2 (SARS-COV-2), sintomas clínicos e positividade da rRT-PCR. Fonte: Adaptado de Lippi (2020, p 4).

Objetivo

O objetivo desta avaliação é identificar a eficácia do teste PCR no diagnóstico de pacientes com coronavírus.

Método

A dúvida clínica é: Qual a eficácia do teste PCR no diagnóstico do coronavírus?

Critérios de elegibilidade:

- (1) Pacientes com suspeita de infecção por coronavírus
- (2) Diagnóstico de coronavírus efetuado por PCR
- (3) Coleta de amostras por swab nasofaríngeo (NF) e/ou orofaríngeo (OF)
- (4) Estudos em diagnóstico de SARS, MERS e SARS COV-2
- (5) Ensaios clínicos de melhor evidência e qualidade
- (6) Sem limite de período ou idioma
- (7) Textos completos disponíveis para acesso, com resultados em especificidade e sensibilidade da PCR
- (8) Excluídos estudos com dados incompletos de especificidade e sensibilidade e painel viral para diagnóstico etiológico de infecção do trato respiratório

A busca por evidência será realizada nas seguintes bases de informação científica virtual, utilizando as estratégias de busca:

- MEDLINE/PUBMED: ((COVID OR COV OR nCOV OR CORONAVÍRUS) AND (PCR OR Polymerase Chain Reaction OR Nucleic Acid Amplification OR Nucleic Acid Amplification Techniques OR Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) AND (diagnosis/broad[filter])), data 04/2020.
- CENTRAL COCHRANE: (COVID OR COV OR nCOV OR CORONAVÍRUS) AND (PCR OR Polymerase Chain Reaction OR Nucleic Acid Amplification OR Nucleic Acid Amplification Techniques OR Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction), data 04/2020.

As informações obtidas das características dos estudos selecionadas serão: nome do autor e ano do estudo, desenho do estudo, número de pacientes, população, tipo de teste e comparação, descritos na Tabela 1.

Os dados dos resultados serão coletados em números absolutos fornecidos diretamente ou por informações inferidas relatadas no texto. Resultados dos estudos serão colocados em tabela 2x2, onde os verdadeiros positivos, falsos positivos, verdadeiros negativos e falsos negativos serão compilados. O processo de coleta de dados e meta-análise serão feitos por dois autores independentes e revisados por todos os autores. Divergências serão resolvidas por consenso e discussão entre todos autores.

Avaliação de vieses e qualidade da evidência

A metodologia utilizada para avaliação da qualidade dos estudos foi através da ferramenta *Quality Assessment of Diagnostic Accuracy Studies 2 (QUADAS-2)*⁽¹⁴⁾, a qual foi executada por dois autores independentes. Divergências foram resolvidas em consulta a um terceiro autor independente.

Análise de dados

Os dados serão extraídos para o desfecho principal da acurácia do teste RT-PCR no diagnóstico de coronavírus. Os resultados coletados serão verdadeiros positivos, falsos positivos,

verdadeiros negativos, falsos negativos, sensibilidade e especificidade e analisados em tabela 2x2 através do *software Catmaker Tables*⁽¹⁵⁾.

Os resultados dos estudos incluídos poderão ser agregados e meta-analisados através *software Meta-Disc version 1.4*⁽¹⁶⁾, através do qual serão obtidos resultados da sensibilidade, especificidade, razão de verossimilhança positivo, valor razão de verossimilhança negativo e curva SROC.

Resultados

Na busca por evidência foram recuperados 1.260 estudos, sendo selecionados pelo título 107, pelos resumos 28, excluídos 6, avaliados por texto completo 22 trabalhos. Dos 22 estudos foram excluídos 9 e selecionados 13⁽¹⁷⁻²⁹⁾ para suportar esta avaliação; sendo que os motivos de exclusão e relação dos excluídos estão disponíveis nas referências, Tabela 1 e Figura 7, em Anexos.

As características das populações incluídas e resultados extraídos estão resumidos nas Tabelas 2-3, em Anexos.

Os treze estudos incluídos nesta revisão foram efetivamente transversais, sem cálculo amostral, conduzidos em uma única instituição, incluindo um total de 6.295 amostras colhidas através de swab nasal, orofaringe ou ambos.

Avaliação de vieses e qualidade da evidência

Foi utilizada a ferramenta QUADAS-2⁽¹⁴⁾ para avaliar a qualidade dos treze estudos incluídos nesta revisão (Figura 4). Na seleção de pacientes, encontramos risco de vieses baixo em doze estudos (92%) e baixo-médio risco em um (8%). Na avaliação dos testes índices observamos dez estudos (77%) com baixo risco de vieses, dois estudos (15%) com risco baixo-moderado e um com risco moderado (8%). Em relação ao teste considerado padrão ouro (referência) tivemos doze estudos (92%) com baixo risco de vieses e um com risco moderado. Nos vieses de fluxo e tempo, onze estudos (85%) tiveram baixo risco, dois (15%) com risco moderado.

Meta-análise

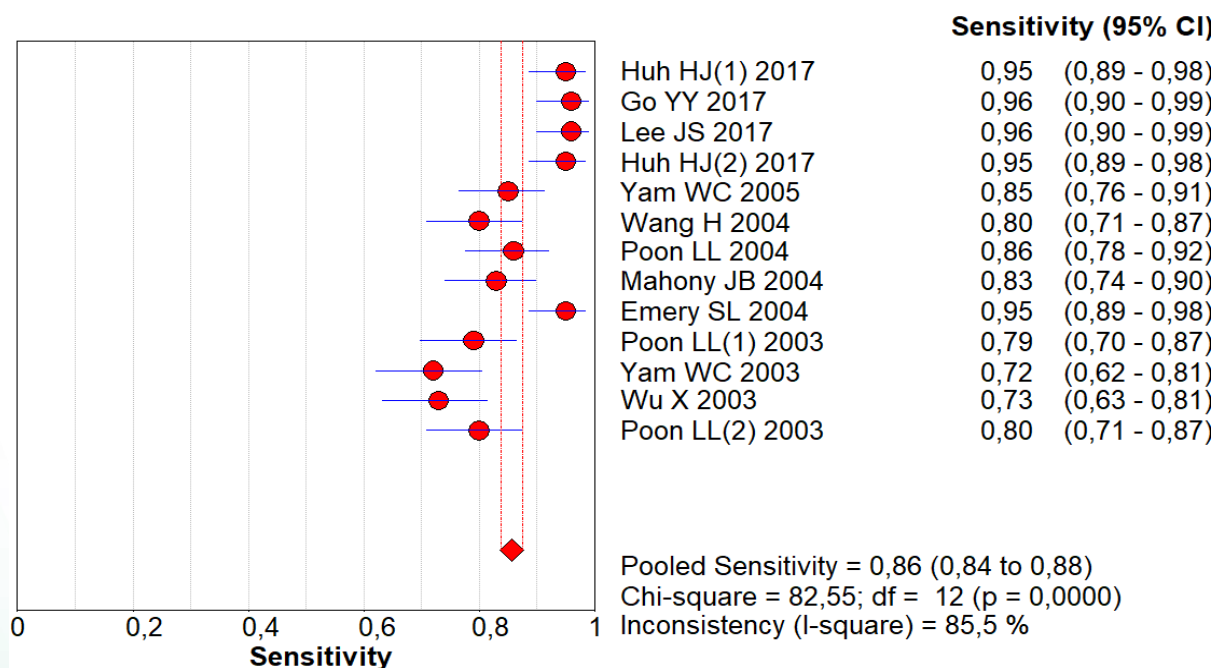


Figura 2. Florest plot de estimativa da sensibilidade no diagnóstico de coronavírus por PCR.

Treze estudos⁽¹⁷⁻²⁹⁾ apresentaram dados possíveis a serem meta-analisados. A sensibilidade (Figura 2) da técnica PCR para diagnóstico de coronavírus foi de 86% (IC95% = 84 a 88%); $I^2 = 85\%$.

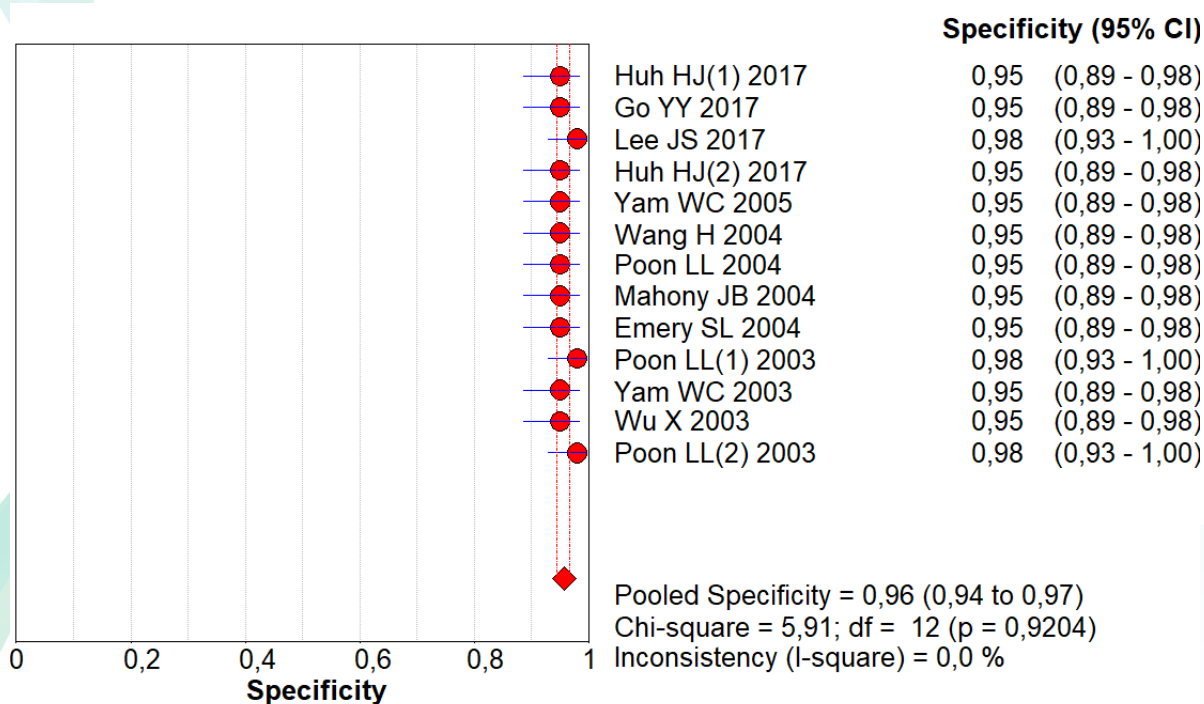


Figura 3. Florest plot de estimativa da especificidade no diagnóstico de coronavírus por PCR.

A estimativa da especificidade calculada para os estudos (Figura 3) foi de 96% (IC95% = 94 a 97%); $I^2 = 0\%$.

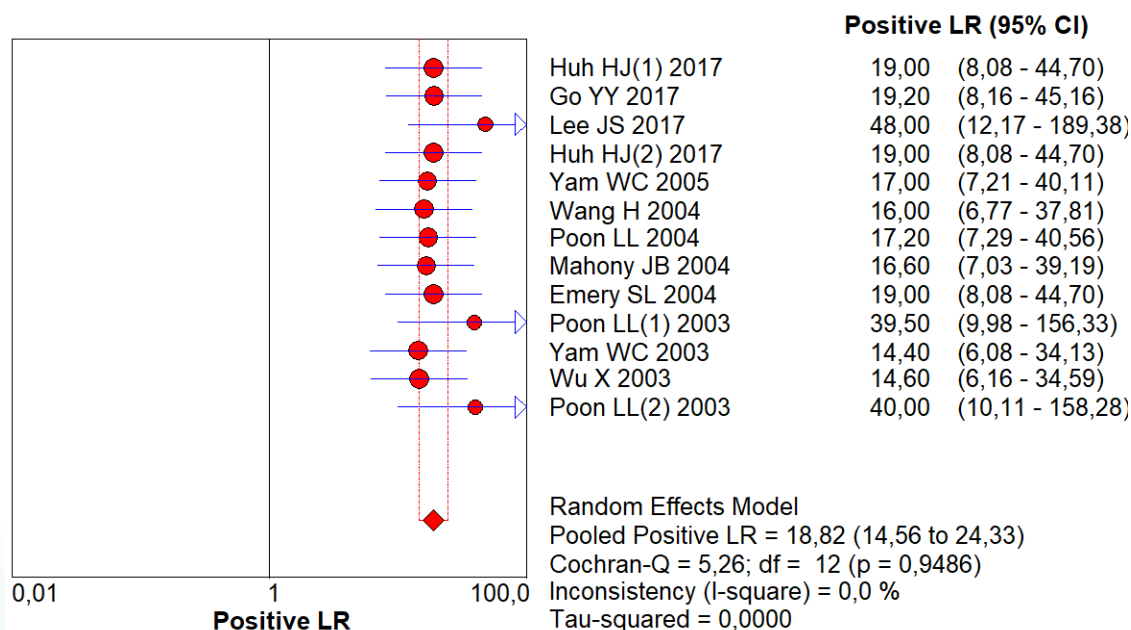


Figura 4. Florest plot de estimativa da razão de verossimilhança positiva no diagnóstico de coronavírus por PCR.

O resultado para razão de verossimilhança positiva (Figura 4) foi 18,8 (IC95% = 14.5 a 24.3); $I^2 = 0\%$.

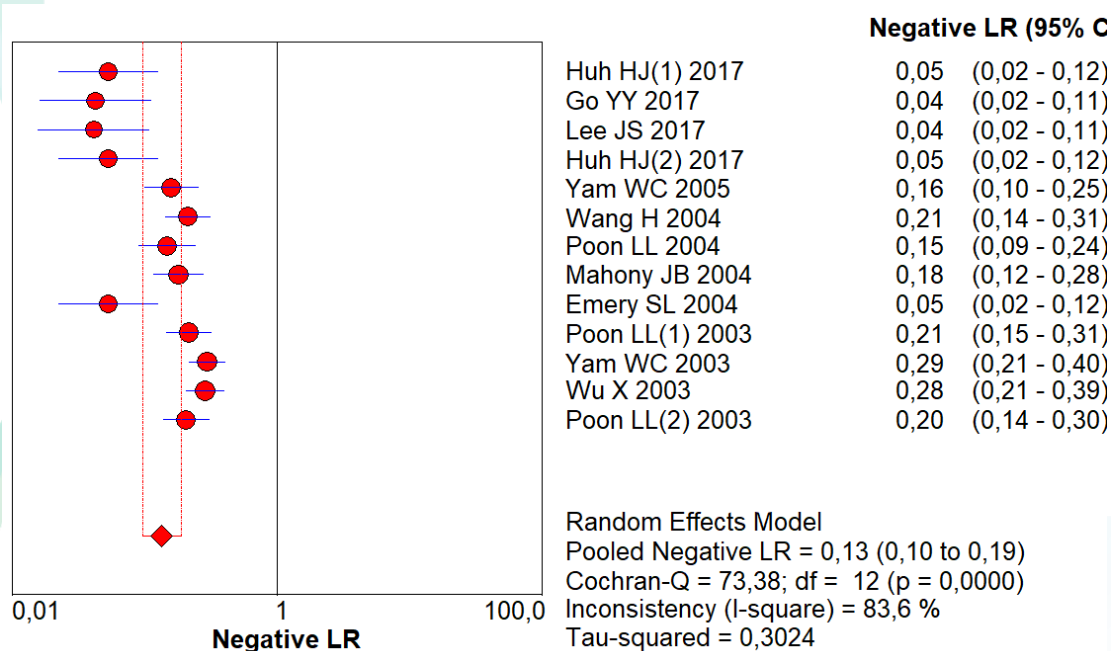


Figura 5. Florest plot de estimativa da razão de verossimilhança negativa no diagnóstico de coronavírus por PCR.

O resultado para razão de verossimilhança negativa (Figura 5) foi 0,13 (IC95% = 0,1 a 0,19); $I^2 = 83,6\%$.

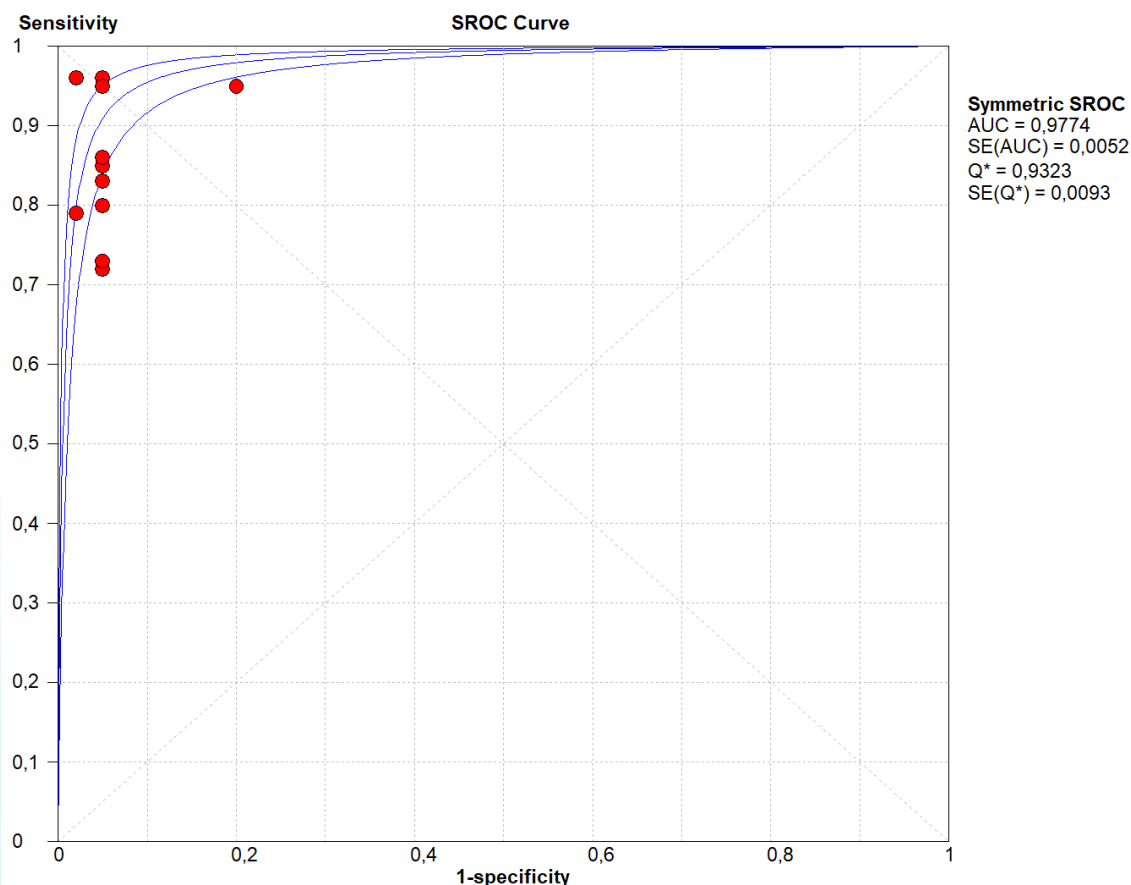


Figura 6. Summary Receiver Operating Characteristic Curve (SROC) no diagnóstico de coronavírus por PCR. Avaliando a curva SROC (Figura 6) estimamos o valor de área sob a curva (*area under the curve* - AUC) de 0,977 e $Q = 0,93$.

Discussão

Desde 2003 ocorrem casos de síndromes respiratórias, cuja etiologia é decorrente de infecção por coronavírus, com dois surtos epidêmicos precedentes (SRAS-COV e MERS). Em novembro de 2019 iniciou um novo surto, com proporções de pandemia, que se propagou pelo mundo em grande velocidade, levando à humanidade um grande número de mortes e morbidades. Na mesma velocidade de propagação do vírus ocorreram pesquisas para diagnóstico e tratamento da referida patologia.

Nesta revisão, pesquisamos estudos de melhor qualidade científica disponível para avaliar a acurácia do teste PCR no diagnóstico de coronavírus.

Na busca recuperamos apenas estudos observacionais transversais para sustentar a evidência da revisão, conferindo uma qualidade moderada, com baixo risco de vieses. Entretanto, Deeks JJ, et al. ⁽³⁰⁾ encontrou alto risco de viés e qualidade baixa quando avaliou, através de revisão sistemática, o teste diagnóstico sorológico para COVID-19, resultado este, provavelmente, devido ao rigor metodológico aplicado na avaliação pela ferramenta QUADAS-2.

Nesta revisão pesquisamos estudos com suspeita ou diagnóstico de infecção respiratória por coronavírus em pacientes humanos. A técnica PCR foi adotada em todos os estudos, com pequenas variações que não interferem na sua acurácia.

Os valores obtidos através da meta-análise foram: sensibilidade (86%), especificidade (96%), razão de verossimilhança positiva (18.82), razão de verossimilhança negativa (0.13) e área sob a curva (AUC) (0.97).

A acurácia do teste PCR para diagnóstico de coronavírus pode ser alterada de acordo com a prevalência da doença.

Podemos simular 3 situações:

- Em uma prevalência de 50%, comum entre profissionais da saúde com sintomas respiratórios, obtemos uma probabilidade pós-teste de 96%.
- Em uma prevalência de 20%, teremos probabilidade pós-teste de 84%.
- Para uma prevalência de 5%, obtemos uma probabilidade pós-teste de 55%.

Como podemos observar, mesmo com uma alta sensibilidade e especificidade do teste PCR, para diagnóstico do coronavírus, tem-se diferentes resultados na sua eficácia.

Pode-se interpretar que ao aplicar o teste em condições de baixa prevalência da doença, permite-se diagnosticar com certeza 55% dos casos.

Hipoteticamente ao realizarmos um segundo teste consecutivo no mesmo paciente, considerando uma prevalência de 96% (probabilidade pós-teste do primeiro teste com prevalência inicial de 50%) obtemos uma probabilidade pós-teste de aproximadamente 100% (certeza diagnóstica)

Devemos salientar ainda os fatores que podem influenciar nos resultados do exame, produzindo falsos negativos, como: técnica e local da coleta, tempo do início dos sintomas, armazenamento e transporte do material até o local do exame.

Síntese da evidência

A técnica por PCR no diagnóstico do coronavírus tem sensibilidade de 86% e especificidade de 96%, entretanto deve ser aplicada em situações de alta prevalência de infecção por coronavírus (não específico de SARS-Cov-2). Quando apresentar dúvida no diagnóstico pode-se indicar uma segunda coleta de amostra para confirmação do diagnóstico. Qualidade da evidência moderada.

Referências

1. Wu F, Zhao S, Yu B, et al. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China [published correction appears in *Nature*. 2020 Apr;580(7803):E7]. *Nature*. 2020;579(7798):265-269. doi:10.1038/s41586-020-2008-3.
2. Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *N Engl J Med*. 2020;382(18):1708-1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032.
3. COVID-19(Dashboard), World Health Organization, Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acessado em 14 de junho de 2020.
4. Sorensen MD, Sørensen B, Gonzalez-Dosal R, et al. Severe acute respiratory syndrome (SARS): development of diagnostics and antivirals. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1067(1):500-505. doi:10.1196/annals.1354.072.
5. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. *Emerg Microbes Infect*. 2020;9(1):747-756 doi:10.1080/22221751.2020.1745095.
6. Huh HJ, Ko JH, Kim YE, et al. Importance of Specimen Type and Quality in Diagnosing Middle East Respiratory Syndrome. *Ann Lab Med*. 2017;37(1):81-83. doi:10.3343/alm.2017.37.1.81.
7. Gezer NS, Ergun B, Barış MM, et al. COVID-19 S: A new proposal for diagnosis and structured reporting of COVID-19 on computed tomography imaging [published online ahead of print, 2020 Jun 19]. *Diagn Interv Radiol*. 2020;10.5152/dir.2020.20351. doi:10.5152/dir.2020.20351.
8. Huh HJ, Ko JH, Kim YE, et al. Importance of Specimen Type and Quality in Diagnosing Middle East Respiratory Syndrome. *Ann Lab Med*. 2017;37(1):81-83. doi:10.3343/alm.2017.37.1.81.
9. Hong KH, Lee SW, Kim TS, et al. Guidelines for Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med*. 2020;40(5):351-360. doi:10.3343/alm.2020.40.5.351.
10. Padoan A, Cosma C, Sciacovelli L, Faggian D, Plebani M. Analytical performances of a chemiluminescence immunoassay for SARS-CoV-2 IgM/IgG and antibody kinetics [published online ahead of print, 2020 Apr 16]. *Clin Chem Lab Med*. 2020;/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0443/cclm-2020-0443.xml. doi:10.1515/cclm-2020-0443.
11. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19) [published online ahead of print, 2020 Mar 16]. *Clin Chem Lab Med*. 2020;/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0285/cclm-2020-0285.xml. doi:10.1515/cclm-2020-0285.
12. Corman VM, Eckerle I, Bleicker T, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction [published correction appears in *Euro Surveill*.

- 2012;17(40): pii/20288]. *Euro Surveill.* 2012;17(39):20285. Published 2012 Sep 27. doi:10.2807/ese.17.39.20285-em.
13. Corman VM, Müller MA, Costabel U, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Euro Surveill.* 2012;17(49):20334. Published 2012 Dec 6. doi:10.2807/ese.17.49.20334-em.
14. Whiting PF, Rutjes AW, Westwood ME, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann Intern Med.* 2011;155(8):529-536. doi:10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009 Disponível em: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-155-8-201110180-00009>.
15. Centre for Evidence-Based Medicine. CATMaker and EBM calculators [Internet]. Oxford: CEBM; c2018 [cited 2018 Dec 7]. Available from: <https://www.cebm.net/2014/06/catmaker-ebm-calculators/>.
16. Zamora J, Abaira V, Muriel A, Khan K, Coomarasamy A. Meta-DiSc: a software for meta-analysis of test accuracy data. *BMC Med Res Methodol.* 2006; 6:31. Published 2006 Jul 12. doi:10.1186/1471-2288-6-31.
17. Huh HJ, Kim JY, Kwon HJ, et al. Performance Evaluation of the PowerChek MERS (upE & ORF1a) Real-Time PCR Kit for the Detection of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus RNA. *Ann Lab Med.* 2017;37(6):494-498. doi:10.3343/alm.2017.37.6.494.
18. Go YY, Kim YS, Cheon S, et al. Evaluation and Clinical Validation of Two Field-Deployable Reverse Transcription-Insulated Isothermal PCR Assays for the Detection of the Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus. *J Mol Diagn.* 2017;19(6):817-827. doi: 10.1016/j.jmoldx.2017.06.007.
19. Lee JS, Ahn JS, Yu BS, et al. Evaluation of a Real-Time Reverse Transcription-PCR (RT-PCR) Assay for Detection of Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) in Clinical Samples from an Outbreak in South Korea in 2015. *J Clin Microbiol.* 2017;55(8):2554-2555. doi:10.1128/JCM.00667-17.
20. Huh HJ, Ko JH, Kim YE, et al. Importance of Specimen Type and Quality in Diagnosing Middle East Respiratory Syndrome. *Ann Lab Med.* 2017;37(1):81-83. doi:10.3343/alm.2017.37.1.81.
21. Yam WC, Chan KH, Chow KH, et al. Clinical evaluation of real-time PCR assays for rapid diagnosis of SARS coronavirus during outbreak and post-epidemic periods. *J Clin Virol.* 2005;33(1):19-24. doi: 10.1016/j.jcv.2004.09.029.
22. Wang H, Mao Y, Ju L, et al. Detection and monitoring of SARS coronavirus in the plasma and peripheral blood lymphocytes of patients with severe acute respiratory syndrome. *Clin Chem.* 2004;50(7):1237-1240. doi:10.1373/clinchem.2004.031237.

23. Poon LL, Wong BW, Chan KH, et al. A one step quantitative RT-PCR for detection of SARS coronavírus with an internal control for PCR inhibitors. *J Clin Virol.* 2004;30(3):214-217. doi:10.1016/j.jcv.2003.12.007.
24. Mahony JB, Petrich A, Louie L, et al. Performance and Cost evaluation of one commercial and six in-house conventional and real-time reverse transcription-pcr assays for detection of severe acute respiratory syndrome coronavírus. *J Clin Microbiol.* 2004;42(4):1471-1476. doi:10.1128/jcm.42.4.1471-1476.2004.
25. Emery SL, Erdman DD, Bowen MD, et al. Real-time reverse transcription-polymerase chain reaction assay for SARS-associated coronavírus. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(2):311-316. doi:10.3201/eid1002.030759.
26. Yam WC, Chan KH, Poon LL, et al. Evaluation of reverse transcription-PCR assays for rapid diagnosis of severe acute respiratory syndrome associated with a novel coronavírus. *J Clin Microbiol.* 2003;41(10):4521-4524. doi:10.1128/jcm.41.10.4521-4524.2003.
27. Poon LL, Chan KH, Wong OK, et al. Early diagnosis of SARS coronavírus infection by real time RT-PCR. *J Clin Virol.* 2003;28(3):233-238. doi:10.1016/j.jcv.2003.08.004.
28. Wu X, Cheng G, Di B, et al. Establishment of a fluorescent polymerase chain reaction method for the detection of the SARS-associated coronavírus and its clinical application. *Chin Med J (Engl).* 2003;116(7):988-990.
29. Poon LL, Wong OK, Chan KH, et al. Rapid diagnosis of a coronavírus associated with severe acute respiratory syndrome (SARS) [published correction appears in Clin Chem. 2003 Jul;49(7):1234]. *Clin Chem.* 2003;49(6 Pt 1):953-955. doi:10.1373/49.6.953.
30. Deeks JJ, Dinnes J, Takwoingi Y, et al. Antibody tests for identification of current and past infection with SARS-CoV-2. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;6:CD013652. Published 2020 Jun 25. doi:10.1002/14651858.CD013652.
31. Lippi G, Simundic AM, Plebani M. Potential preanalytical and analytical vulnerabilities in the laboratory diagnosis of coronavírus disease 2019 (COVID-19). Il.color. Disponível em: *Clin Chem Lab Med.* 2020;58(7):1070-1076. doi:10.1515/cclm-2020-0285.

Anexos

Tabela 1. Estudos excluídos e motivo.

ESTUDO E ANO	PMID	MOTIVO DA EXCLUSÃO
1- Long C 2020	32229322	Comparação CT versus RT-PCR
2- Yan C 2020	32276116	Comparação entre técnicas de PCR
3- Fang Y 2020	32073353	Comparação CT versus RT-PCR
4- Shirato k 2018	29763640	Comparação entre técnicas de PCR
5- Pas SD 2015	26209385	Faltam dados de especificidade
6- Shirato K 2014	25103205	Faltam dados de especificidade
7- Cho CH 2014	24582583	Faltam dados de especificidade
8- Cho CH 2013	23743345	Faltam dados de especificidade
9- Corman VM 2012	23041020	Faltam dados de especificidade

Tabela 2. Descrição das características clínicas dos estudos incluídos.

ESTUDOS	PMID	DESENHO	POPULAÇÃO	TESTE	COMPARAÇÃO
Huh HJ 2017	28840986	Transversal	Foram analisadas 100 amostras (90 escarros, 10 swab NF), coletadas de 100 diferentes pacientes entre junho e julho 2015. 50 amostras foram de pacientes com suspeita clínica de SARS e 50 assintomáticos.	rRT-PCR	RT-PCR aninhado e sequenciamento dos genes RNA polimerase (RdRp) e N.
Huh HJ 2017	27834073	Transversal	Analisou-se 5.330 amostras de 3.484 pacientes com suspeita de SARS-CoV(4291 escarro, 145 AT, 732 NF, 35 OF, 62 NFe OF, 65 outros).	real time RT-PCR upE e ORF1a	Diferentes locais de coleta de amostras
Go YY 2017	28807812	Transversal	Total de 55 amostras coletadas de 20 pacientes, positivos para MERS, em 2015. Coleta de escarro. 48 amostras de indivíduos controles. Análise de sensibilidade da sequência do gene ORF1a e upE.	RT-qPCR	RT-qPCR

Lee JS 2017	28566313	Transversal	Total de 55 amostras coletadas de 20 pacientes, positivos para MERS, em 2015. Coleta de escarro. 48 amostras de indivíduos controles. Análise de sensibilidade da sequência do gene ORF1a e upE.	rRT-PCR	MagNA Pure 96 RNA extraction kit
Yam WC 2005	15797361	Transversal	Pacientes com suspeita clínica de SARS. Coletado 54 amostras NF e 10 OF por swab	rRT-PCR	PCR convencional
Wang H 2004	15229153	Transversal	Foram selecionados 44 pacientes com SARS internados e diagnosticados de acordo com a definição da OMS	RT-PCR	Conversão sorológica
Poon LL 2004	15135737	Transversal	Extraído 86 amostras de aspirados nasofaríngeos de pacientes que apresentaram diagnóstico clínico de SARS, com evidência sorológica de infecção por SARS-CoV	1- One step quantitative RT-PCR (monoplex)	Conversão sorológica
Mahony JB 2004	15070991	Transversal	Colhido 17 amostras NF/OF colhidas de pacientes com provável SARS entre março e abril de 2003, em Toronto, Canada.	Sete tipos de testes de transcrição reversa-PCR (RT-PCR) - 3 convencionais e 4 real-time	Cultura de vírus
Emery SL 2004	15030703	Transversal	Total de 340 amostras colhidas por swab nasal e oral, em 246 pessoas com infecção confirmada ou suspeita de infecção pelo SARS-CoV.	TaqMan real-time RT-PCR	Cultura de vírus
Poon LL 2003	12765993	Transversal	Selecionados 29 pacientes (29 amostras) com SARS e infecções confirmadas clínica e sorologicamente, em Hong-Kong entre fevereiro e março de 2003.	RT-PCR convencional	Pacientes com diagnóstico clínico e sorológico
Yam WC 2003	14532176	Transversal	Colhidas 124 amostras NF e 65 OF colhidas de 163 pacientes internados em Hong-Kong, entre fevereiro e abril de 2003, clinicamente suspeitos de SARS, segundo critérios da OMS.	RT-PCR - Avaliando dois testes de primeira geração de transcrição reversa (WHO-HKU and WHO-Hamburg RT-PCR assays)	Conversão sorológica
Wu X 2003	12890368	Transversal	97 amostras (67 de pacientes com SARS e 30 de saudáveis).	RT-PCR	Amostras de saudáveis versus doentes

Poon LL 2003	14522060	Transversal	Incluídos 50 pacientes com diagnóstico clínico de SARS, segundo OMS, subsequentemente confirmados sorologicamente. 50 amostras de NF coletas de 1-3 dias após sintomas	Real-time RT-PCR - em amostras de soro e aspirado nasofaríngeo	Amostras de NF de indivíduos saudáveis e pacientes que apresentam outros vírus foram consideradas controles negativos.
--------------	----------	-------------	--	--	--

NF= nasofaringe, OF= orofaringe, PCR= reação de polimerase em cadeia, RT-PCR= PCR em tempo real, OMS= Organização Mundial de Saúde.

Tabela 3. Resultados extraídos dos estudos incluídos.

RESULTADOS RT-PCR – COVID				
ESTUDOS	PMID	DESENHO	SENSIB	ESPECIF
Huh HJ 2017	28840986	Transversal	0.95	0.95
Go YY 2017	28807812	Transversal	0.96	0.95
Lee JS 2017	28566313	Transversal	0.96	0.98
Huh HJ 2017	27834073	Transversal	0.95	0.95
Yam WC 2005	15797361	Transversal	0.85	0.95
Wang H 2004	15229153	Transversal	0.80	0.95
Poon LL 2004	15135737	Transversal	0.86	0.95
Mahony JB 2004	15070991	Transversal	0.83	0.94
Emery SL 2004	15030703	Transversal	0.95	0.95
Poon LL 2003	12765993	Transversal	0.79	0.98
Yam WC 2003	14532176	Transversal	0.72	0.95
Wu X 2003	12890368	Transversal	0.73	0.95
Poon LL 2003	14522060	Transversal	0.80	0.98

Figura 7. Diagrama de fluxo

A seleção dos trabalhos recuperados nas bases virtuais de informação científica está detalhada no fluxograma abaixo:

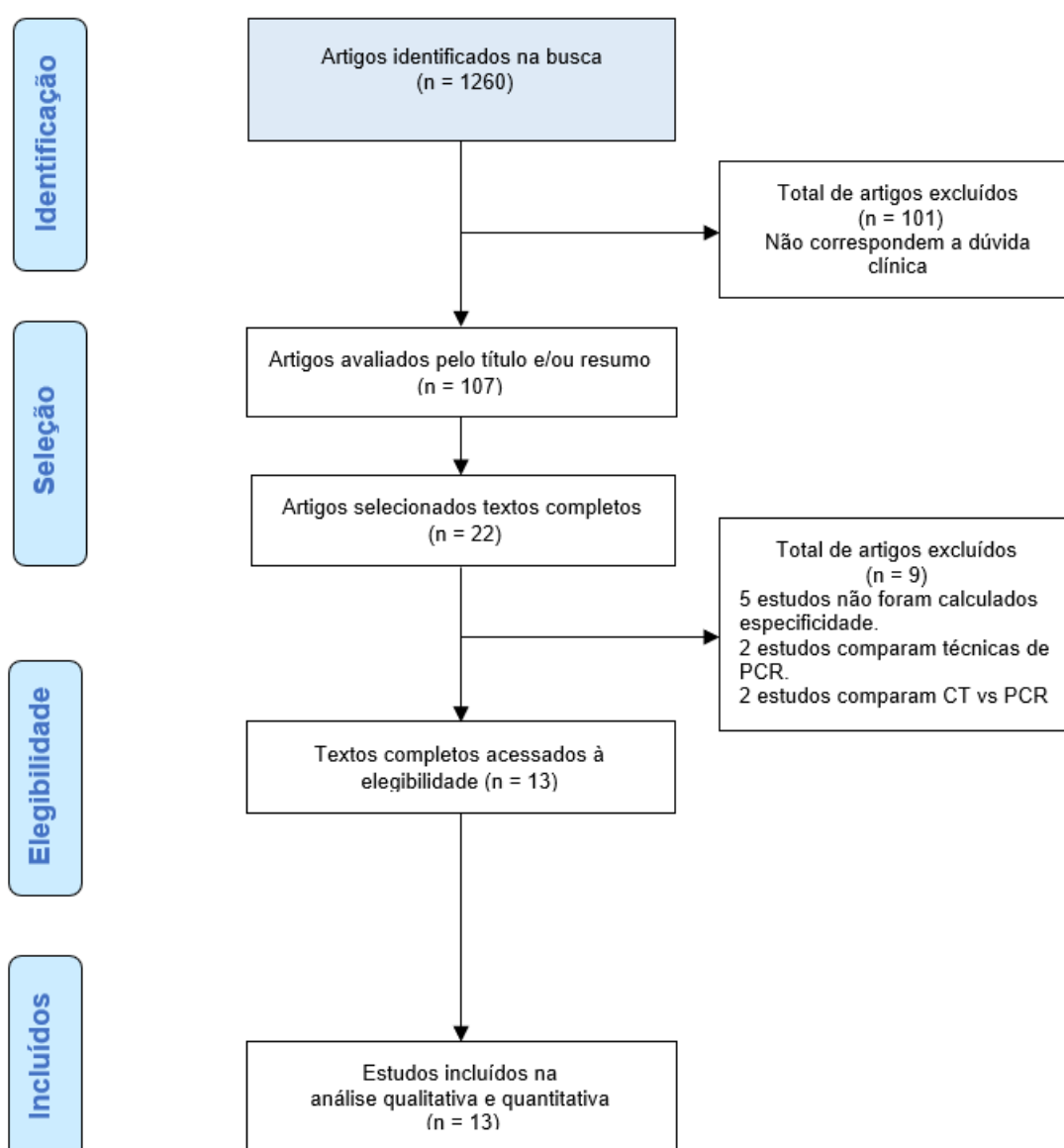


Tabela 4. Risco de viés avaliado pelo QUADAS-2.

Estudos ? Critérios de vieses ?		Go 2017	Lee 2017	Huh HJ 2017(1)	Huh HJ 2017(2)	Yam 2005	Wang 2004	Poon 2004	Mahony 2004	Emery 2004	Poon 2003(1)	Yam 2003	Wu X 2003	Poon LL 2003(2)
Seleção de pacientes	Perguntas de sinalização													
	Houve amostra consecutiva ou aleatória?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	incerto	incerto
	Foi evitado desenho caso-controle?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim
Risco de viés	Evitou-se exclusões inapropriadas?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim
	A seleção de pacientes pode ter introduzido viés?	baixo	baixo	baixo	Baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	Incerto
	Há preocupações de que os pacientes incluídos não correspondam à questão da revisão?	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo
Teste avaliado	Perguntas de sinalização													
	Os resultados dos testes índices foram interpretados sem conhecimento dos resultados do teste referência?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	não	não	não	sim	não
	Se um limiar foi usado, foi pré-especificado?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	não
Preocupações com a aplicabilidade	Risco de viés	baixo	baixo	baixo	Baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	incerto	Alto
	Há preocupações de que o teste índice em sua condução ou interpretação diferem da questão da revisão?	baixo	baixo	baixo	alto	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	Baixo
	O teste de referência provavelmente classifica corretamente a condição clínica alvo?	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	incerto
Teste de referência	Perguntas de sinalização													
	Os resultados do teste de referência foram interpretados sem conhecimento dos resultados do teste índice?	sim	sim	sim	não	sim	não	não	não	não	não	não	incerto	não
	Risco de viés	baixo	baixo	baixo	Baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	Alto
Preocupações com a aplicabilidade	Há preocupação que a condição alvo, conforme definida pelo teste de referência, não corresponde à definição na questão de pesquisa?	baixo	baixo	baixo	Baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	baixo	incerto
	Houve um intervalo apropriado entre o teste índice e o de referência?	sim	sim	sim	I	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	incerto	incerto
	Todos os pacientes receberam um padrão de referência?	sim	sim	sim	não	sim	sim	sim	sim	sim	sim	sim	incerto	sim
Fluxo e tempo	Perguntas de sinalização													

Huh HJ 2017(1) PMID 28840986, Huh HJ 2017(2) PMID 27834073, Poon LL (1) PMID 12765993, Poon LL (2) PMID 14522060