

Avaliação do desempenho de teste rápido e de dois imunoenaios automatizados para Sars-CoV-2

Performance evaluation of a Sars-CoV-2 rapid test and two automated immunoassays

Márcia J. Castejon¹; Rosemeire Yamashiro¹; Elaine L. Oliveira¹; Edilene R. P. Silveira¹; Marisa A. Hong¹; Carmem Aparecida F. Oliveira¹; Valéria O. Silva¹; Cintia M. Ahagon¹; Ana Késia S. Lima²; José Angelo L. Lindoso²; Luís Fernando M. Brígido¹

1. Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, São Paulo, Brasil. 2. Instituto de Infectologia Emílio Ribas, São Paulo, São Paulo, Brasil.

RESUMO

Introdução: Em função da urgência e demanda de uma resposta à pandemia do novo coronavírus (Covid-19), vários testes de detecção de anticorpos para a síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (Sars-CoV-2) têm sido desenvolvidos. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho do teste rápido utilizado em um inquérito epidemiológico para Sars-CoV-2 em comparação com outros ensaios sorológicos. **Métodos:** Foram avaliadas 86 amostras de soro em três ensaios sorológicos: um imunoenamo de fluxo lateral – Wondfo Sars-CoV-2 Antibody Test (TRW) – e dois imunoenaios de quimioluminescência: Elecsys anti-Sars-CoV-2 (ECLIA) e Sars-CoV-2 IgG (CMIA-IgG). **Resultados:** As sensibilidades diagnósticas estimadas dos testes sorológicos na avaliação dessas amostras foram: TRW 59% [95% intervalo de confiança (IC) 43,4%-72,9%], ECLIA 66,7% (51%-79,4%) e CMIA-IgG 61,5% (47,1%-73%). Enquanto isso, a especificidade diagnóstica estimada para TRW foi 78,7% (95% CI 65,1%-88%), ECLIA 72,3% (58,2%-83,1%) e CMIA-IgG 76,6% (74%-95,5%). Os valores de sensibilidade e especificidade foram inferiores aos afirmados pelos fabricantes. Embora 16,2% (14/86) dos resultados tenham sido discordantes entre os três ensaios sorológicos para Sars-CoV-2, o grau de concordância pelo índice Kappa foi adequado: TRW/CMIA-IgG [0,757 (95% IC 0,615-0,899)], TRW/ECLIA [0,715 (0,565-0,864)] e ECLIA/CMIA-IgG [0,858 (0,748-0,968)]. **Conclusão:** O teste sorológico pode ser uma ferramenta diagnóstica útil, o que reforça sua avaliação criteriosa, bem como o momento correto de sua utilização.

Unitermos: infecções por coronavírus; sorologia; anticorpos; testes imediatos; imunoenamo; betacoronavírus.

ABSTRACT

Introduction: Due to urgency and demand of a response to the Covid-19 pandemic, numerous Sars-CoV-2 immunoassays have been rapidly developed. **Objective:** This study aimed at assessing the performance of rapid Sars-CoV-2 antibody test in comparison to high-throughput serological assays. **Methods:** A total of 86 serum samples were evaluated in the three assays: a lateral flow immunoassay – Wondfo Sars-CoV-2 Antibody Test (WRT) – and two chemiluminescence immunoassays: Elecsys Anti-Sars-CoV-2 (ECLIA), and Sars-CoV-2 IgG (CMIA-IgG). **Results:** The estimated diagnostic sensitivities of serological tests in the evaluation of serum samples from the epidemiological survey were: WRT 59.0% [95% confidence interval (CI) 43.4%-72.9%], ECLIA 66.7% (51%-79.4%), and CMIA-IgG 61.5% (47.1%-73%). Meanwhile, the estimated diagnostic specificity was for WRT 78.7% (95% CI 65.1%-88%), ECLIA 72.3% (58.2%-83.1%), and CMIA-IgG 76.6% (74%-95.5%). The sensitivity and specificity values were lower than manufacturers' claimed. Although 16.2% (14/86) of serological results were discordant among the three Sars-CoV-2 serological assays, the degree of agreement by the kappa index was adequate: WRT/CMIA-IgG [0.757 (95% CI 0.615-0.899)], WRT/ECLIA [0.715 (0.565-0.864)], and ECLIA/CMIA-IgG [0.858 (0.748-0.968)]. **Conclusion:** The serological testing may be a useful diagnostic tool, which reinforces its careful evaluation, and, as well as the correct time to use it.

Key words: coronavirus infections; serology; antibodies; point of care testing; immunoassay; betacoronavirus.

RESUMEN

Introducción: Debido a la urgencia y la demanda de una respuesta a la pandemia de Covid-19, se han desarrollado rápidamente numerosos inmunoensayos del Sars-CoV-2. **Objetivo:** Este estudio tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de la prueba rápida de anticuerpos contra el Sars-CoV-2 en comparación con los ensayos serológicos de alto rendimiento. **Métodos:** Se evaluaron un total de 86 muestras de suero en los tres ensayos: un inmunoensayo de flujo lateral – Wondfo Sars-CoV-2 Antibody Test (WRT) – y dos inmunoensayos de quimioluminiscencia: Elecsys Anti-Sars-CoV-2 (ECLIA) y Sars-CoV-2 IgG (CMIA-IgG). **Resultados:** Las sensibilidades diagnósticas estimadas de las pruebas serológicas en la evaluación de muestras de suero de la encuesta epidemiológica fueron: WRT 59% [intervalo de confianza (IC) del 95%: 43,4%-72,9%], ECLIA 66,7% (51%-79,4%) y CMIA-IgG 61,5% (47,1%-73%). Mientras tanto, la especificidad diagnóstica estimada fue para WRT 78,7% (95% CI 65,1%-88%), ECLIA 72,3% (58,2%-83,1%) y CMIA-IgG 76,6% (74%-95,5%). Los valores de sensibilidad y especificidad fueron más bajos que los declarados por los fabricantes. Aunque el 16,2% (14/86) de los resultados fueron discordantes entre los tres ensayos serológicos del Sars-CoV-2, el grado de concordancia del índice kappa fue adecuado: WRT/CMIA-IgG [0,757 (IC del 95%: 0,615-0,899)], WRT/ECLIA [0,715 (0,565-0,864)] y ECLIA/CMIA-IgG [0,858 (0,748-0,968)]. **Conclusión:** La prueba serológica puede ser una herramienta diagnóstica útil, lo que refuerza su evaluación cuidadosa, así como el momento adecuado para usarla.

Palabras clave: infecciones por coronavirus; serología; anticuerpos; pruebas en el punto de atención; inmunoensayo; betacoronavirus.

INTRODUÇÃO

O diagnóstico laboratorial tem desempenhado um papel fundamental no diagnóstico rápido do coronavírus na pandemia da Covid-19⁽¹⁾. Alguns métodos diferentes são usados rotineiramente para confirmar o diagnóstico ou em inquérito epidemiológico e soroconversão pós-vacinal.

Entre os testes de ácido nucleico, o método de reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa (RT-PCR) é considerado o “padrão-ouro” para a detecção da síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2 (Sars-CoV-2) em razão de benefícios como especificidade e por representar um ensaio qualitativo simples⁽²⁾. No entanto, em algumas situações, a sensibilidade dos testes de RT-PCR tem sido abaixo do ideal devido a diferentes fatores, como baixa carga viral no momento da infecção, coleta, conservação e transporte inadequados de amostra e características dos alvos genéticos⁽²⁻⁵⁾.

Em casos com forte suspeita clínica de infecção com resultados de PCR negativos, a detecção de anticorpos pode ser uma ferramenta útil para estabelecer a exposição, a infecção e a imunidade ao Sars-CoV-2, bem como para realizar estudos epidemiológicos^(5, 6). Em comparação com a PCR, o teste sorológico é vantajoso devido a seu tempo de resposta mais rápido, ao alto rendimento, a menos carga de trabalho e à disponibilidade de amostras^(3,7).

A sorologia desempenha um papel fundamental no rastreamento de contato, na pesquisa epidemiológica, na identificação de doadores de plasma convalescente (que pode servir como um possível tratamento para aqueles que estão gravemente doentes por Covid-19), no estudo da eficácia e do padrão de resposta

imunológica às vacinas e na estimativa da soroprevalência^(4, 8, 9). Embora seja necessária uma avaliação mais aprofundada devido à urgência e à demanda de resposta à pandemia, vários imunoenaios Sars-CoV-2 foram rapidamente desenvolvidos e colocados no mercado com limitada validação em amostras clínicas^(1, 8). No entanto, para usar os testes sorológicos de maneira adequada, é importante entender suas características de desempenho e limitações⁽¹⁰⁾.

Dessa forma, a validação do teste sorológico é necessária para o diagnóstico preciso da infecção por Sars-CoV-2⁽⁸⁾. Contudo, há muita preocupação com os ensaios imunocromatográficos de fluxo lateral, que se espalharam em razão de sua fácil e rápida performance, mas muitos desses testes carecem de uma avaliação adequada de sensibilidade e especificidade⁽⁴⁾.

Diferentes tipos de ensaios podem ser usados para determinar diferentes aspectos da resposta imune e da função dos anticorpos. Os testes podem ser amplamente classificados para detectar anticorpos de ligação ou neutralizantes. A resposta imune humoral produz anticorpos contra diversos antígenos virais, incluindo a proteína do nucleocapsídeo (N) e a proteína spike (S). Enquanto a proteína S está presente na superfície viral e é essencial para a entrada do vírus, a N é a proteína imunodominante expressa mais abundantemente que interage com o ácido ribonucleico (RNA)⁽¹¹⁾.

Embora a utilidade atual dos testes sorológicos seja principalmente para estudos epidemiológicos, a avaliação adequada da sensibilidade e da especificidade clínicas desses testes na população testada é muito importante. A especificidade do teste afeta diretamente seus valores preditivos positivos (VPPs) e, portanto, a confiabilidade

de um resultado positivo. Apesar de a alta especificidade ser relatada para muitos ensaios sorológicos Sars-CoV-2 comerciais, nem todos eles atingem consistentemente esse limiar de especificidade⁽¹²⁾. Nesse contexto, a identificação de indivíduos com resposta sorológica ao Sars-CoV-2 fornece informações complementares importantes ao avaliar a fração de indivíduos previamente infectados⁽¹³⁾. Neste estudo, objetivou-se avaliar o desempenho do teste rápido utilizado em inquérito epidemiológico para Sars-CoV-2 em comparação com outros ensaios sorológicos, levando em consideração a especificidade e a sensibilidade dos métodos.

MÉTODOS

Deteção de anticorpos anti-Sars-CoV-2

Todos os testes sorológicos foram realizados de acordo com as instruções do fabricante:

- ensaio imunocromatográfico de fluxo lateral Wondfo Sars-CoV-2 Antibody Test (Guangzhou Wondfo Biotech Co., Ltd., China). O teste rápido Wondfo (TRW) detecta anticorpos específicos [imunoglobulina classe G (IgG) e classe M (IgM)] para o domínio de ligação da proteína spike (S) do Sars-CoV-2;
- imunoenensaio por eletroquimioluminescência [Elecsys anti-Sars-CoV-2 (Roche Diagnostics, EUA)]. Roche ECLIA destinado à detecção de anticorpos totais dirigidos contra o antígeno nucleocapsídeo (N) do Sars-CoV-2;
- imunoenensaio quimioluminescente de micropartículas [Sars-CoV-IgG (Abbott Diagnostics, Irlanda)]. Abbott imunoenensaio quimioluminescente (CMIA)-IgG destina-se à detecção de anticorpos IgG dirigidos ao antígeno nucleocapsídeo (N) do Sars-CoV-2.

Além desses ensaios, um CMIA [Sars-CoV-IgM (Abbott Diagnostics, Irlanda)], teste para anticorpos IgM específicos (CMIA-IgM) para o domínio de ligação da proteína spike (S) do Sars-CoV-2, foi usado apenas nas amostras do grupo-controle.

Todas as amostras foram avaliadas nos três testes sorológicos para Sars-CoV-2.

Amostra de soro

O fluxograma (**Figura**) mostra as amostras avaliadas neste estudo.

Inquérito epidemiológico

Oitenta e seis amostras respiratórias e de soro foram coletadas de 5 a 26 de julho de 2020, como parte do levantamento epidemiológico realizado no Instituto Adolfo Lutz (IAL) para avaliar a exposição de seus funcionários ao Sars-CoV-2. Todas as amostras respiratórias foram avaliadas para Sars-CoV-2 RT-PCR, 39 (45,3%) com RNA viral detectável e 47 (54,7%) com RNA Sars-CoV-2 indetectável (12 com sintomas compatíveis com Covid-19 e 35 sem sintomas). Todas as amostras de soro foram submetidas aos três testes sorológicos TRW, Roche ECLIA e Abbott CMIA-IgG.

Os oitenta e seis participantes foram agrupados de acordo com o intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta de sangue (estágio da doença) para análise em testes sorológicos – fase inicial (sete a 13 dias após os sintomas da doença), intermediário (14 a 20 dias após os sintomas da doença) e fase tardia (≥ 21 dias após os sintomas da doença)⁽⁸⁾.

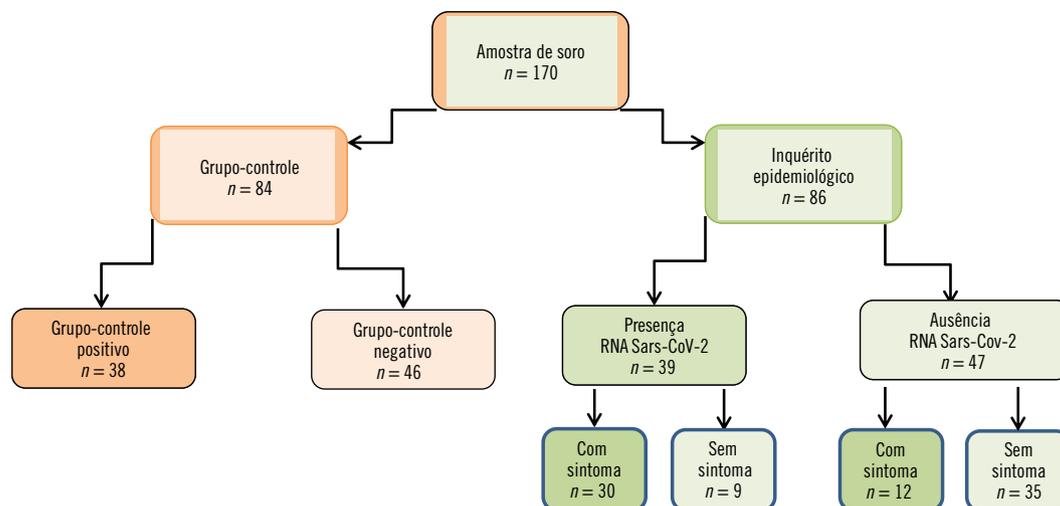


FIGURA – Amostras de soro avaliadas neste estudo

RNA: ácido ribonucleico; Sars-CoV-2: síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2.

Neste estudo, a associação de sinais e sintomas para definir o diagnóstico de Covid-19 obedeceu aos critérios estabelecidos pelo Ministério da Saúde do Brasil⁽¹⁴⁾.

Grupo-controle

Oitenta e quatro amostras de soro controle foram incluídas para avaliar o desempenho dos ensaios utilizados neste estudo, sendo distribuídas em dois grupos:

- grupo-controle positivo – 38 (45,2%) amostras de soro foram obtidas de 22 pacientes hospitalizados com Covid-19 para avaliar a sensibilidade dos testes. Todos os casos inscritos foram confirmados como infectados pelo Sars-CoV-2 por meio do teste de RT-PCR em amostras do trato respiratório. As amostras de soro foram obtidas em diferentes estágios da Covid-19 – 15 (39,5%) amostras na fase inicial, 12 (31,6%) na fase intermediária e 11 (28,9%) na fase tardia. A classificação do estágio da doença foi a mesma utilizada nas amostras do inquérito epidemiológico⁽⁸⁾. O intervalo entre a coleta da amostra respiratória (RT-PCR) e a coleta da amostra de soro variou de -1 a +45 dias (média = $13,6 \pm 11,6$ dias; mediana = 10 dias);

- grupo-controle negativo – 46 (54,8%) amostras de soro remanescentes da rotina diagnóstica de doenças infecciosas armazenadas no IAL de dezembro de 2017 a março de 2018 foram utilizadas para avaliar a especificidade dos ensaios, caracterizadas da seguinte forma: 40 (87%) com resultados positivos para um ou mais marcadores em testes sorológicos do vírus da imunodeficiência humana (HIV), sífilis, vírus da hepatite B (HBV), vírus da hepatite C (HCV), *Mycoplasma pneumoniae* (MP), vírus da dengue (DENV), vírus da Chikungunya (CHIKV) e vírus da febre amarela (YFV), e seis (13%) amostras com resultados negativos para marcadores sorológicos em bancos de sangue. Todas as amostras negativas usadas foram coletadas antes de 2020, antes da circulação do Sars-CoV-2 no Brasil.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A sensibilidade diagnóstica do teste de anticorpos foi definida como a porcentagem de resultados positivos para anticorpos contra Sars-CoV-2 nas amostras de soro de pacientes confirmados com Covid-19 (com RNA Sars-CoV-2 detectável por RT-PCR), enquanto a especificidade do diagnóstico foi definida como a porcentagem de resultados negativos para anticorpos contra Sars-CoV-2 nas amostras de soro de indivíduos sem Covid-19 (sem RNA de Sars-CoV-2 detectável por RT-PCR ou amostras do grupo-controle negativo). Para o cálculo de sensibilidade diagnóstica, especificidade diagnóstica, VPP, valor preditivo negativo, acurácia e soropositividade, foi utilizado o programa Microsoft Office Excel.

As concordâncias de mensuração entre diferentes testes de anticorpos foram interpretadas por meio do índice Kappa (k), proposto por Altman (1999)⁽¹⁵⁾ e adaptado de Landis e Koch (1977). O valor de $k < 0,2$ representa concordância pobre; 0,21-0,4, fraca; 0,41-0,6, moderada; 0,61-0,8, substancial; 0,81-1, concordância quase completa. O teste exato de Fisher, bicaudal, foi usado para variáveis categóricas.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto Adolfo Lutz (CAAE: 31924420.8.0000.0059 e CAAE: 43250620.4.1001.0059).

RESULTADOS

Amostras do grupo-controle

Com base nos resultados de 84 amostras de soro-controle, os valores estimados de sensibilidade e especificidade dos ensaios estão descritos na **Tabela 1**. As amostras do grupo-controle positivo foram classificadas de acordo com o estágio da doença.

A sensibilidade diagnóstica foi avaliada por meio de 38 amostras de soro positivas para infecção por Sars-CoV-2, confirmadas por RT-PCR e agrupadas de acordo com o intervalo de tempo entre o início dos sintomas e a coleta de sangue (estágio da doença). Entre os 15 pacientes na fase inicial da doença, 100% (15/15) resultaram positivo pelo TRW e CMIA-IgM; 80% (12/15), pelo ECLIA; e 86,7% (13/15), pelo CMIA-IgG. As amostras agrupadas nas fases intermediária e tardia testaram positivo em todos os quatro ensaios.

Na avaliação das amostras do grupo-controle, TRW e CMIA-IgM apresentaram os valores máximos de sensibilidade e especificidade (100%), enquanto ECLIA, os valores de sensibilidade e especificidade de 92,1% e 97,8%, respectivamente. O valor de sensibilidade global de CMIA-IgG foi de 94,7%, com duas amostras do grupo-controle positivo apresentando resultado negativo. Por outro lado, essas duas amostras apresentaram resultado positivo em CMIA-IgM e negativo em ECLIA, embora esse último seja capaz de detectar tanto imunoglobulina específica G quanto M. Para as amostras do grupo-controle negativo, que foram coletadas e armazenadas antes do surgimento do Sars-CoV-2, observamos uma amostra negativa para marcadores sorológicos de bancos de sangue com resultado positivo pelo ECLIA (índice 4,39: valor de referência $< 1,00$).

Na avaliação das 84 amostras do grupo-controle, o grau de concordância entre os testes sorológicos é descrito na **Tabela 2**.

A concordância entre os dois imunoenaios automatizados e um teste rápido para detecção de anticorpos específicos para Sars-CoV-2 variou de 95,2% ($k = 0,903$) a 100% ($k = 1,00$). Embora a concordância percentual entre ECLIA e CMIA-IgG tenha sido muito boa 97,6% ($k = 0,951$), ambos apresentaram dois resultados falso

TABELA 1 – Valores estimados de sensibilidade e especificidade de ensaios nas amostras do grupo-controle

Amostras de soro	n	TRW (IgM/IgG)			ECLIA (Ig Total)			CMIA (IgG)			CMIA (IgM)		
		P	N	Resultado	P	N	Resultado	P	N	Resultado	P	N	Resultado
Grupo-controle positivo	38	Valor de sensibilidade (IC 95%)											
Fase inicial	15	15	0	100% (79,6%-100%)	12	3	80% (54,8%-93%)	13	2	86,7% (62,1%-96,3%)	15	0	100% (79,6%-100%)
Fase intermediária	12	12	0	100% (75,8%-100%)	12	0	100% (75,8%-100%)	12	0	100% (75,8%-100%)	12	0	100% (75,8%-100%)
Fase tardia	11	11	0	100% (74,1%-100%)	11	0	100% (74,1%-100%)	11	0	100% (74,1%-100%)	11	0	100% (74,1%-100%)
Total	38	0	100% (90,8%-100%)	35	3	92,1% (79,2%-97,3%)	36	2	94,7% (82,7%-98,5%)	38	0	100% (90,8%-100%)	
Grupo-controle negativo	46	Valor de especificidade (IC 95%)											
Anticorpos para outras patologias*	40	0	40		0	40		0	40		0	40	
Negativo**	6	0	6	100% (92,3%-100%)	1	5	97,8% (88,7%-99,6%)	0	6	100% (92,3%-100%)	0	6	100% (92,3%-100%)
Total		0	46		1	45		0	46		0	46	

TRW: teste rápido de Wondfo; ECLIA: imunoenensaio por eletroquimioluminescência (Roche); Ig total: imunoglobulina total; CMIA: imunoenensaio quimioluminescente de micropartículas (Abbott); IgM: imunoglobulina classe M; IgG: imunoglobulina classe G; n: número total de amostras; P: positivo; N: negativo; IC: intervalo de confiança; *amostras coletadas antes de 2019 e reativas a outras doenças infecciosas, entre elas: HIV (vírus da imunodeficiência humana), sífilis, HBV (vírus da hepatite B), HCV (vírus da hepatite C), DENV (vírus da dengue), YF (febre amarela), MP (Mycoplasma pneumoniae), CHIKV (vírus da chikungunya); **para marcadores sorológicos de bancos de sangue.

TABELA 2 – Concordância entre quatro testes sorológicos na avaliação das amostras do grupo-controle

Teste sorológico	Percentual de concordância	Índice k	Erro padrão	IC 95%	Concordância observada	Concordância esperada	Grau de concordância
TRW/CMIA IgM	100%	1,00	0,000	(1,000-1,000)	1,00	0,50	Muito bom
TRW/CMIA IgG	97,6%	0,952	0,034	(0,886-1,018)	0,98	0,51	Muito bom
TRW/ECLIA	95,2%	0,903	0,047	(0,811-0,996)	0,95	0,51	Muito bom
ECLIA/CMIA IgM	95,2%	0,903	0,047	(0,811-0,996)	0,95	0,51	Muito bom
ECLIA/CMIA IgG	97,6%	0,951	0,034	(0,885-1,018)	0,98	0,51	Muito bom

TRW: teste rápido de Wondfo; CMIA: imunoenensaio quimioluminescente de micropartículas (Abbott); ECLIA: imunoenensaio por eletroquimioluminescência (Roche); IgM: imunoglobulina classe M; IgG: imunoglobulina classe G; índice k: índice Kappa; IC: intervalo de confiança.

negativos em amostras do grupo-controle positivo, colhidas no estágio inicial da doença

Amostras do inquérito epidemiológico

As amostras foram separadas em quatro grupos distintos de acordo com os resultados do RT-PCR e dos relatos de sintomas: (i) RNA Sars-CoV-2 detectável com sintomas; (ii) RNA Sars-CoV-2 detectável sem sintomas; (iii) RNA Sars-CoV-2 indetectável com sintomas; e (iv) RNA Sars-CoV-2 indetectável sem sintomas. Esses resultados e os obtidos em testes sorológicos são detalhados na **Tabela 3**.

Conforme demonstrado na Tabela 3, 48,8% (42/86) dos participantes que relataram sintomas de Covid-19 foram classificados de acordo com o estágio da doença no momento da coleta de sangue para exames sorológicos – 7,1% (3/42) antes do estágio inicial da doença (< 7 dias), 11,9% (5/42) na fase intermediária e 81% (34/42) em estágio tardio. Os outros 51,2% (44/86) não relataram sintoma de Covid-19. Nenhum participante relatou ter sintomas moderados ou graves.

A ocorrência de um resultado positivo de anticorpos (em qualquer ensaio) entre aqueles com sintomas de Covid-19, mas com teste de RNA negativo, foi significativamente maior do que entre aqueles com RNA negativo sem sintomas (9/12 vs 5/35, $p = 0,0002$). Mesmo se considerarmos positivos apenas aqueles com reatividade nos três testes, a diferença ainda é significativa ($p = 0,02$), Tabela 3.

A avaliação das 86 amostras mostrou oito casos com RNA Sars-CoV-2 indetectável e resultado positivo nos três testes sorológicos.

Embora 16,3% (14/86) dos resultados sorológicos da pesquisa tenham apresentado algum resultado discordante, a concordância entre os testes sorológicos foi adequada de acordo com a interpretação do índice Kappa; os dados estão consolidados na **Tabela 4**.

A maior concordância percentual (93%) foi observada entre o ECLIA e o CMIA-IgG, ambos testes quimioluminescentes, com índice Kappa igual a 0,858 (muito bom). Em relação ao TRW e CMIA-IgG, a concordância percentual foi de 88,4% ($k = 0,757$), e de 86% ($k = 0,715$) em relação ao TRW e ECLIA (anticorpo total).

Os valores estimados de sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos nas amostras de soro dos participantes da pesquisa foram calculados em relação aos resultados do RT-PCR Sars-CoV-2 (presença de RNA/ausência de RNA). A **Tabela 5** mostra os valores estimados de sensibilidade, especificidade, acurácia, VPPs e valores preditivos negativos (VPNs).

Na avaliação das 86 amostras de soro do inquérito epidemiológico pelo TRW, a soropositividade estimada foi de 45,3% [100* (23 amostras verdadeiras positivas + 16 amostras falso negativas)/86]. O VPP do TRW demonstrou 69,7% de chance de o indivíduo estar doente, contra 30,3% (100 - 69,7) de não ter doença, apesar do resultado positivo. O TRW apresentou 18,6% (16/86) de resultados falso negativos em comparação com 11,6% (10/86) de falso positivos, confirmados pelos valores estimados de sensibilidade (59%) e especificidade (78,7%).

TABELA 3 – Desempenho dos três testes sorológicos anti-Sars-CoV-2 nas amostras de soro do inquérito epidemiológico de acordo com os resultados de RT-PCR

RT- PCR	Ensaio/resultado			Número de amostras <i>n</i> = 86	Estágio da doença (<i>n</i>)
	Wondfo (TR)	Roche (ECLIA)	Abbott (CMIA)		
Presença de RNA Sars-CoV-2 com sintomas <i>n</i> = 30 (34,9%)	P	P	P	17 (56,7%)	Intermediário (4) e tardio (13)
	N	N	N	8 (26,7%)	Inicial < 7 dias (2) e tardio (6)
	N	P	P	3 (10%)	Tardio
	P	N	N	1 (3,3%)	Inicial (< 7 dias)
	N	P	N	1 (3,3%)	Tardio
Presença de RNA Sars-CoV-2 sem sintomas <i>n</i> = 9 (10,4%)	P	P	P	3 (33,3%)	_____
	N	N	N	3 (33,3%)	_____
	N	P	N	1 (11,1%)	_____
	P	P	N	1 (11,1%)	_____
	P	N	P	1 (11,1%)	_____
Ausência de RNA Sars CoV-2 com sintomas <i>n</i> = 12 (14%)	P	P	P	4 (33,3%)	Intermediário (1) e tardio (3)
	N	N	N	3 (25%)	Tardio
	N	P	P	3 (25%)	Tardio
	P	N	N	1 (8,3%)	Tardio
	P	P	N	1 (8,3%)	Tardio
Ausência de RNA Sars-CoV-2 sem sintomas <i>n</i> = 35 (40,7%)	P	P	P	4 (11,4%)	_____
	N	N	N	30 (85,7%)	_____
	N	P	N	1 (2,9%)	_____

Sars-CoV-2: síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2; RT-PCR: reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa; TR: teste rápido; ECLIA: imunoensaio por eletroquimioluminescência; CMIA: imunoensaio quimioluminescente de micropartículas; RNA: ácido ribonucleico; N: negativo; P: positivo; n: tamanho da amostra.

TABELA 4 – Grau de concordância entre os testes sorológicos nas amostras do inquérito epidemiológico

Teste sorológico	Número de amostras	Percentual de concordância	Índice k	Erro padrão	IC 95%	Concordância observada	Concordância esperada	Grau de concordância
TRW/CMIA-IgG		88,4% (76/86)	0,757	0,072	(0,615-0,899)	0,88	0,52	Bom
TRW/ECLIA	86	86% (74/86)	0,715	0,076	(0,565-0,864)	0,86	0,51	Bom
ECLIA/CMIA-IgG		93% (80/86)	0,858	0,056	(0,748-0,968)	0,93	0,51	Muito bom

TRW: teste rápido Wondfo; ECLIA: imunoensaio por eletroquimioluminescência (Roche); CMIA: imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (Abbott); IgG: imunoglobulina classe G; índice k: índice Kappa; IC: intervalo de confiança.

TABELA 5 – Valores estimados de sensibilidade, especificidade, VPP, VPN e acurácia obtidos por diferentes ensaios sorológicos Sars-CoV-2 nas amostras dos participantes

Ensaio	Parâmetro					Soropositividade	Amostras
	Sensibilidade total	Especificidade total	VPP	VPN	Acurácia		
TRW (IgM/IgG)	59% (95% CI 43,4%-72,9%)	78,7% (95% CI 65,1%-88%)	69,7%	69,8%	69,8%		Inquérito epidemiológico (<i>n</i> = 86)
ECLIA (Ig total)	66,7% (95% CI 51%-79,4%)	72,3% (95% CI 58,2%-83,1%)	66,7%	72,3%	69,8%	45,3%	
CMIA-IgG	61,5% (95% CI 47,1%-73%)	76,6% (95% CI 74%-95,5%)	68,6%	70,6%	69,8%		

Sars-CoV-2: síndrome respiratória aguda grave do coronavírus 2; TRW: teste rápido de Wondfo; ECLIA: imunoensaio por eletroquimioluminescência (Roche); CMIA: imunoensaio quimioluminescente de micropartículas (Abbott); IgG: imunoglobulina classe G; IgM: imunoglobulina classe M; IC: intervalo de confiança; VPP: valor preditivo positivo; VPN: valor preditivo negativo.

DISCUSSÃO

Neste estudo, analisamos três ensaios sorológicos com diferentes desenhos para avaliar seu desempenho em amostras de soro de casos positivos para RNA Sars-CoV-2 documentados, pacientes hospitalizados e participantes de um inquérito epidemiológico que incluiu indivíduos assintomáticos e casos com sintomas compatíveis

com Covid-19. O teste de RNA foi realizado pelo menos uma vez por todos os participantes, assim como as amostras coletadas antes da pandemia, com ou sem outras infecções prevalentes, que foram testadas para estimar a especificidade dos anticorpos para Sars-CoV-2. Embora a detecção de anticorpos específicos para Sars-CoV-2 não possa ser assumida como uma imunidade correlacionada ao vírus, é uma ferramenta útil para ações de saúde pública, especialmente em pesquisas epidemiológicas.

Comparamos os resultados do TRW Sars-CoV-2 IgG/IgM, realizado em amostras de soro, com os de dois testes sorológicos automatizados de alto rendimento, todos realizados de acordo com as respectivas instruções do fabricante. O uso de testes sorológicos imediatos no local de atendimento (POC) facilita o acesso ao diagnóstico e permite seu uso fora dos ambientes tradicionais do sistema de saúde. No entanto, o uso de um teste POC de detecção de anticorpos com soro, em vez de sangue total, pode melhorar sua sensibilidade, além de permitir comparações diretas com outros ensaios sorológicos que utilizam amostras de soro. Os resultados neste trabalho referem-se a teste laboratorial de soro e a extrapolação para o campo do teste POC deve considerar isso.

As estimativas de sensibilidade e especificidade apresentadas podem não ser indicativas do desempenho dos testes no mundo real⁽¹⁰⁾. O valor preditivo de um teste quando aplicado na população em geral pode ser diferente daquele obtido na amostra do estudo em que foi desenvolvido pela primeira vez⁽¹⁶⁾. Houve aumento nos valores de sensibilidade e especificidade do TRW quando as amostras dos grupos-controle foram avaliadas (Tabela 1). No entanto, algumas diferenças podem existir devido a diferentes condições clínicas, período de aparecimento dos sintomas (“momento da virada sorológica”), dados epidemiológicos, entre outros⁽¹⁷⁾. O grupo-controle positivo consistia em amostras de pacientes hospitalizados que apresentavam sintomas moderados a graves de Covid-19, enquanto os participantes da pesquisa relataram apenas sintomas leves da doença. A sensibilidade do TRW aumentou com a gravidade clínica e os dias de sintomas, corroborando dados da literatura⁽¹⁸⁾. O grupo-controle negativo foi composto por amostras de soro coletadas muito antes do primeiro caso de Sars-CoV-2 relatado no Brasil, ao contrário das amostras dos participantes da pesquisa com resultados negativos de RNA Sars-CoV-2 por RT-PCR, que podem ter adquirido infecção anteriormente ou mesmo outras infecções que podem causar reação cruzada de anticorpos. A concordância entre ECLIA e CMIA-IgG foi muito boa, mas ambos mostraram discordância em três amostras do grupo-controle – uma do grupo-controle negativo e duas do grupo-controle positivo. As duas amostras do grupo-controle positivo, quando avaliadas em CMIA-IgM e TRW (IgM/IgG), foram positivas, porém, o ECLIA, para anticorpos totais, não detectou a presença de imunoglobulinas nessas amostras no estágio inicial da doença. Em pacientes com Covid-19, a produção de IgM e IgG pode ser simultânea e em alguns pacientes atingir um nível de platô após seis dias (estágio inicial da doença)⁽¹⁹⁾. E quanto à amostra do grupo-controle negativo, houve a presença de anticorpos de reação cruzada no ECLIA.

Em oito casos do inquérito epidemiológico com resultados positivos nos três testes sorológicos e o RNA Sars-CoV-2 não detectado – quatro dos quais sem relato de sintomas –, a infecção pode ter ocorrido anteriormente e não foi identificada pelo RT-PCR. Em outros quatro casos sintomáticos, é possível que a sensibilidade

diagnóstica da RT-PCR tenha sido influenciada pelo momento da coleta da amostra e pelo período de desenvolvimento da doença^(2,5). Mesmo não tendo sido possível descartar a hipótese de que isso tenha ocorrido devido à coleta da amostra de PCR após o período de viremia oro/nasofaríngea, para efeito do presente estudo, na ausência do RNA Sars-CoV-2, os resultados dos testes de reagente sorológico foram considerados falso positivos. A interpretação de nossas taxas de resultado deve levar em consideração o fato de que na maioria dos casos apenas um RT-PCR foi realizado.

Conforme observado no estudo de Costa *et al.* (2020)⁽²⁰⁾, o desempenho do teste sorológico pode ser superior ao do RT-PCR. Resultados discordantes devem ser interpretados com cautela. No caso de resultado negativo de RT-PCR com características clínicas suspeitas da Covid-19, o momento da coleta e o estágio de desenvolvimento da doença desempenham um papel importante nos resultados do ensaio⁽²⁾. Embora o teste de ácido nucleico ou o sequenciamento genético sirvam como método padrão-ouro para confirmação da infecção, vários estudos recentes relataram resultados falso negativos de Sars-CoV-2 por RT-PCR⁽²¹⁾. Um estudo indica que 2/10 casos negativos pelo RT-PCR foram confirmados como positivos para Covid-19, resultando em uma taxa de falso negativos de aproximadamente 20%⁽²²⁾.

Da mesma forma, os resultados negativos dos testes sorológicos em amostras com detecção de RNA de Sars-CoV-2 por RT-PCR foram considerados falso negativos. Essas amostras incluíram seis participantes no estágio tardio da doença (29-50 dias do início dos sintomas), com tempo suficiente para a soroconversão. Da mesma forma que resultados falso negativos podem dificultar a prevenção e o controle da pandemia de Covid-19, resultados falso positivos podem levar a estresse desnecessário para o paciente, seus contatos e o sistema de saúde. Para melhorar a precisão do diagnóstico, é necessária uma abordagem racional baseada na utilidade de cada tipo de teste, na forma de coletar a amostra do paciente e no momento certo para realizar a coleta da amostra⁽²²⁾.

Os levantamentos sorológicos podem auxiliar na investigação de um surto em andamento e na avaliação retrospectiva da taxa de ataque ou extensão de um surto. Nos casos em que os ensaios moleculares são negativos e há uma forte ligação epidemiológica com a infecção por Covid-19, amostras de soro pareadas (na fase aguda e de convalescença) podem apoiar o diagnóstico com os testes sorológicos validados disponíveis⁽²³⁾. Algoritmos de testes com mais de um teste podem ser necessários para descartar falso positivos nos testes iniciais, regra que tem sido aplicada para HIV e hepatite. O potencial de alguns ensaios para ter altas especificidades depende de seus isótipos-alvo, dos antígenos usados e do estabelecimento de valores de corte⁽²⁴⁾.

Nesse contexto, os dados clínicos de indivíduos baseados no sinal e nos sintomas da Covid-19 podem ser úteis para a avaliação dos resultados dos testes sorológicos. A sorologia é adequada

para apoiar o diagnóstico de infecção por Covid-19 em pacientes sintomáticos RNA-negativos e estabelecer a soroprevalência em estudos populacionais⁽²⁵⁾. Doze participantes da pesquisa com RNA Sars-CoV-2 não detectado relataram a presença de sintomas de Covid-19, no entanto, esses indicadores clínicos não foram usados para confirmar a presença de doença para fins desta avaliação, porque inevitavelmente isso pode introduzir a incorporação de algum viés. A expectativa é encontrar mais resultados positivos nos testes utilizados, o que tende a inflar a sensibilidade medida desses testes. Neste estudo, o resultado do RT-PCR foi utilizado como parâmetro para determinar a infecção pelo Sars-CoV-2. Vale a pena mencionar que os ensaios sorológicos não costumam substituir os métodos de detecção direta como a principal ferramenta para diagnosticar uma infecção Sars-CoV-2 ativa, mas eles têm várias aplicações importantes no monitoramento e na resposta à pandemia de Covid-19⁽¹¹⁾.

Onze amostras de inquérito com RNA de Sars-CoV-2 detectável apresentaram resultados negativos nos três testes sorológicos (oito casos com sintomas e três sem sintomas) e possivelmente são resultados sorológicos falso negativos ou de fatores relacionados com o sistema imunológico dos indivíduos, principalmente nos seis casos que se encontravam na fase tardia da doença. Também é importante notar que alguns indivíduos não desenvolvem anticorpos IgG ou IgM detectáveis após a infecção (ausência de resposta imune humoral a Sars-CoV-2) ou os anticorpos podem não ser duradouros. Assim, a ausência de anticorpos detectáveis não exclui necessariamente a possibilidade de terem sido previamente infectados^(5, 11, 17). Neste contexto, embora esteja em estágios iniciais de avaliação crítica, pode ser incluída a relação entre a gravidade da doença e a titulação de anticorpos⁽¹⁾. Todos os sintomas relatados pelos participantes desta pesquisa epidemiológica eram leves, o que reforça essa teoria. Em três (3/11) casos assintomáticos, as respostas de anticorpos foram mais baixas⁽²⁶⁾. Nos outros dois casos (2/11), a sorologia para Sars-CoV-2 foi realizada menos de sete dias após o início dos sintomas. Nos primeiros dias de uma infecção, quando a resposta imune do indivíduo ainda está se formando, os anticorpos podem não ser detectados (baixo título de anticorpos). Os anticorpos costumam se tornar detectáveis 1-3 semanas após o início dos sintomas, momento em que as evidências sugerem que a infectividade provavelmente está muito diminuída e que algum grau de imunidade contra infecções futuras se desenvolveu⁽¹¹⁾. No seu estágio inicial, a detecção molecular do vírus é a principal ferramenta para o diagnóstico precoce e preciso da doença, uma vez que a produção de anticorpos é geralmente tardia ou ausente nesta fase⁽²⁷⁾.

Dos 39 participantes com Covid-19 (30 casos com sintomas e nove sem sintomas) confirmados pela presença de RNA Sars-CoV-2, a menor taxa de sensibilidade estimada para os três testes sorológicos foi de 59% para o TRW (43,4 %-72,9%), e a maior, de

66,7% para o ECLIA (51%-79,4%), seguida por 61,5% (47,1%-75%) para o CMIA-IgG. Embora testes diferentes mostrem resultados comparáveis na detecção de anticorpos anti-Sars-CoV-2, fatores como a metodologia específica do teste, o tipo de antígeno usado, a determinação do valor de corte, a dinâmica temporal das respostas imunológicas IgM e IgG específicas do vírus e a presença de anticorpos de reação cruzada ainda são importantes e afetam o desempenho geral dos testes sorológicos^(5, 17).

Uma melhor sensibilidade para amostras de soro com TRW foi relatada por Cota *et al.* (2020)⁽¹⁸⁾ em um estudo brasileiro que avaliou o desempenho de 12 testes sorológicos para o diagnóstico de Covid-19 e descreveu uma sensibilidade geral para Wondfo de 71,7% (64,3%-78,2%). Em outra avaliação do Wondfo, Conte *et al.* (2021)⁽¹⁹⁾ mostraram uma sensibilidade de 47,6% (37,2-58,1) em sangue total capilar. No entanto, é importante observar que o TRW pode ter uma sensibilidade menor quando realizado com sangue capilar. A detecção de anticorpos é mais eficaz em amostras de plasma ou soro do que em sangue total^(16, 28).

Na comparação em pares de resultados de testes dos participantes da pesquisa epidemiológica, a maior concordância percentual (93%) [$k = 0,858$ (muito bom)] foi observada entre ECLIA (anticorpos totais) e CMIA-IgG, ambos os ensaios empregando a proteína do nucleocapsídeo de Sars-CoV-2 como antígeno, seguidos por TRW (ensaio de anticorpo dirigido à proteína spike do Sars-CoV-2) e CMIA-IgG com 88,4% [$k = 0,757$ (bom)], e TRW e ECLIA com 86% [$k = 0,715$ (bom)]. Um estudo anterior mostrou que o anticorpo contra proteína do nucleocapsídeo de Sars-CoV-2 é mais sensível do que o anticorpo da proteína spike para detectar a infecção precoce⁽²⁶⁾. É importante destacar que os resultados apresentados aqui não podem apoiar diretamente uma correlação entre anticorpos Sars-CoV-2 detectáveis e imunidade contra Covid-19.

Em relação ao TRW usado neste inquérito epidemiológico, os valores de sensibilidade, especificidade e acurácia relatados na Tabela 5 são inferiores aos divulgados pelos fabricantes: sensibilidade 86,43% [intervalo de confiança (IC) de 95%; 82,51%-89,58%]; especificidade 99,57% (IC 95%; 97,63%-99,92%); acurácia 91,61% (IC 95%; 89,10%-93,58%). Especificidades de pelo menos 99,5% são necessárias para atingir um alto VPP em populações de baixa prevalência⁽¹¹⁾. Sobre os resultados dos testes sorológicos, na maior parte do país, incluindo áreas que foram fortemente impactadas pela Covid-19, a prevalência do anticorpo do Sars-CoV-2 esperada é baixa, variando de < 5% a 25%; por isso, testagem neste ponto pode resultar relativamente em mais resultados falso positivos e em menos resultados falso negativos⁽¹¹⁾. Neste estudo, a soropositividade (45,3%) foi maior porque muitos participantes apresentaram resultado positivo no RT-PCR, enquanto o TRW apresentou um pouco mais de resultados falso negativos (16/86) do que falso positivos (10/86), com resultados preditivos positivos (69,7%) e negativos (69,8%) semelhantes.

Ressaltamos que existem algumas limitações neste estudo, como o número de amostras de soro avaliadas, que se baseava na disponibilidade de ensaios de quimioluminescência naquele momento. Um maior número de soros a serem testados é essencial para o refinamento dos valores de sensibilidade dos ensaios, principalmente com amostras de pacientes em diferentes estágios da doença, pois os valores de sensibilidade dos testes de anticorpos são altamente relevantes para o cálculo da frequência de exposição ao Sars-CoV-2 em estudos de soroprevalência⁽²⁹⁾. Amostras de indivíduos em estágio inicial da doença são muito importantes para avaliação da sensibilidade de um teste sorológico, além de monitorar o processo de soroconversão. Os anticorpos específicos de Sars-CoV-2 podem ser detectados no soro de aproximadamente 40% dos pacientes de Covid-19 apenas sete dias após o início dos sintomas, com taxas de soroconversão aumentando rapidamente para > 90% no dia 14^(8, 30), assim como a avaliação de amostras negativas para Sars-CoV-2 contendo anticorpos para outras doenças que não foram avaliadas, como citomegalovírus (CMV), Epstein-Barr (VEB), outros coronavírus e autoanticorpos para descartar reatividade cruzada (resultado falso positivo)⁽⁵⁾. Outra limitação do estudo foi o pequeno número de amostras nos estágios inicial e intermediário, o que impossibilitou a avaliação da sensibilidade e especificidade nos grupos por estágio da doença e sua comparação com outros estudos. Uma outra ressalva é que os resultados se referem apenas aos lotes de testes sorológicos utilizados, por isso novos estudos avaliando o desempenho clínico em outros lotes são importantes para confirmar a acurácia.

REFERÊNCIAS

1. Harley K, Gunsolus I. Comparison of the clinical performance of the Abbott alinity IgG, Abbott architect IgM, and Roche elecsys total Sars-CoV-2 antibody assays. *J Clin Microbiol.* 2020; 58: e01243-20.
2. Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in Covid-19 detection: issues affecting the results. *Expert Rev Mol Diagn.* 2020; 20(5): 453-54.
3. Zhao J, Yuan Q, Wang H, et al. Antibody responses to Sars-CoV-2 in patients with novel coronavirus disease 2019. *Clin Infect Dis.* 2020; 71(16): 2027-34.
4. Serrano MM, Rodríguez DN, Palop NT, et al. Comparison of commercial lateral flow immunoassays and ELISA for Sars-CoV-2 antibody detection. *J Clin Virol.* 2020. 129: 104529.
5. Chen S-Y, Lee Y-L, Lin Y-C, et al. Multicenter evaluation of two chemiluminescence and three lateral flow immunoassays for the diagnosis of Covid-19 and assessment of antibody dynamic responses to Sars-CoV-2 in Taiwan. *Emerg Microbes Infect.* 2020; 9(1): 2157-68.
6. Gutiérrez-Cobos A, Frutos SG, García DD, et al. Evaluation of diagnostic accuracy of 10 serological assays for detection of Sars-CoV-2 antibodies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2020; 1-7.
7. Wu J-L, Tseng W-P, Lin C-H, et al. Four point-of-care lateral flow immunoassays for diagnosis of Covid-19 and for assessing dynamics of antibody responses to Sars-CoV-2. *J Infect.* 2020; 81(3): 435-42.
8. Lassaunière R, Frische A, Harboe ZB, et al. Evaluation of nine commercial Sars-CoV-2 immunoassays. *MedRxiv* (Preprint).
9. Sasisekharan V, Pentakota N, Jayaraman A, Tharakaraman K, Wogan GN, Narayanasami U. Orthogonal immunoassays for IgG antibodies to Sars-CoV-2 antigens reveal that immune response lasts beyond 4 mo post illness onset. *PNAS.* 2021; 118(5): e2021615118.
10. Food and Drug Administration. Independent evaluations of Covid-19 serological tests. USA 2020. Disponível em: <https://open.fda.gov/apis/device/covid19serology/>.

CONCLUSÃO

Além do RT-PCR para Sars-CoV-2, o teste sorológico pode ser uma útil ferramenta diagnóstica desde que seja considerado o momento correto para a produção de anticorpos. Os testes sorológicos podem ser usados em levantamentos epidemiológicos, mas devem ser avaliados antes da implementação para garantir o desempenho analítico. Por outro lado, uma proporção de pessoas que estão infectadas com Sars-CoV-2 pode não desenvolver anticorpos mensuráveis, limitando, portanto, a sensibilidade de qualquer teste de anticorpos.

DECLARAÇÃO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Andre R. Campos pelo suporte técnico laboratorial na condução deste estudo. Agradecem também aos participantes e membros do projeto de estudo “Inquérito epidemiológico de funcionários e colaboradores do Instituto Adolfo Lutz frente à pandemia da Covid-19”. Agradecimento especial aos participantes da pesquisa por tornarem este estudo possível.

11. Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidelines for Covid-19 antibody testing. Atlanta 2020. Disponível em: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>.
12. Xu G, Emanuel AJ, Nadig S, et al. Evaluation of orthogonal testing algorithm for detection of Sars-CoV-2 IgG antibodies. *Clin Chem*. 2020; 66(12): 1531-37.
13. Vauloup-Fellous C, Maylin S, Périllaud-Dubois C, et al. Performance of 30 commercial Sars-CoV-2 serology assays in testing symptomatic Covid-19 patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2021; 1-7.
14. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância epidemiológica. Emergência de saúde pública de importância nacional pela doença pelo coronavírus 2019. Brasília; 2020. Disponível em: <https://coronavirus.saude.gov.br/guia-de-vigilancia-epidemiologica-covid-19>.
15. Altman DG. Practical statistics for medical research. Inter-rater agreement. 8 ed. London: Chapman & Hall; 1999. p. 403-9.
16. Usher-Smith JA, Sharp SJ, Griffin SJ. The spectrum effect in tests for risk prediction, screening, and diagnosis. *BMJ*. 2016; 353: i3139.
17. Dias VMCH, Carneiro M, Michelin L, et al. Testes sorológicos para Covid-19: interpretação e aplicações práticas. *J Infect Control*. 2020; 9(2).
18. Cota G, Freire ML, Souza CS, et al. Diagnostic performance of commercially available Covid-19 serology tests in Brazil. *Int J Infect Dis*. 2020; 101: 382-90.
19. Conte DC, Carvalho JMA, Luna LKS, Faico-Filho KS, Perosa AH, Nancy Bellei N. Comparative analysis of three point-of-care lateral flow immunoassays for detection of anti-Sars-CoV-2 antibodies: data from 100 healthcare workers in Brazil. *MedRxiv preprint*. April 2021.
20. Costa SF, Buss L, Espinoza EPS, et al. Performance of a qualitative rapid chromatographic immunoassay to diagnose Covid-19 in patients in a middle-income country. *J Clin Virol*. 2020; 131: 104592.
21. Li D, Wang D, Dong J, et al. False-negative results of real-time reverse-transcriptase polymerase chain reaction for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: role of deep-learning-based CT diagnosis and insights from two cases. *Korean J Radiol*. 2020; 21(4): 505-8.
22. Verotti MP, Ramos MC, Henriques CMP, Elias FT, Camargo EB. Testes diagnósticos para Covid-19 registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária: sensibilidade e especificidade reportadas pelos fabricantes. *Com Ciências Saúde*. 2020; 31(1): 217-29.
23. World Health Organization. Laboratory testing for coronavirus disease (Covid-19) in suspected human cases: interim guidance. Geneva; 2020. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>.
24. Tehrani ZR, Saadat S, Saleh E, et al. Performance of nucleocapsid and spike based Sars-CoV-2 serologic assays. *PLoS One*; 15(11): e0237828.
25. Turbett SE, Anahar M, Dighe AS, et al. Evaluation of three commercial Sars-CoV-2 serologic assays and their performance in two-test algorithms. *J Clin Microbiol*. 2021; 59(1): e01892-20.
26. Burbelo PD, Riedo FX, Morishima C, et al. Sensitivity in detection of antibodies to nucleocapsid and spike proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 in patients with coronavirus disease 2019. *J Infect Dis*. 2020; 222: 206-13.
27. Charlton CL, Kanji JN, Johal K, et al. Evaluation of six commercial mid- to high-volume antibody and six point-of-care lateral flow assays for detection of Sars-CoV-2 antibodies. *J Clin Microbiol*. 2020; 58(10): e01361-20.
28. Santos VA, Rafael MM, Sabino EC, Duarte AJS. Comments. Sensitivity of the Wondfo one step Covid-19 test using serum samples. *Clinics*. 2020; 75: e2013.
29. Schnurra C, Reinert N, Biemann R, Kaiser T, Trawinski H, Jassoy C. Comparison of the diagnostic sensitivity of Sars-CoV-2 nucleoprotein and glycoprotein-based antibody tests. *J Clin Virol*. 2020; 129: 104544.
30. Krüttgen A, Cornelissen CG, Dreher M, Hornef M, Imöhl M, Kleines M. Comparison of four new commercial serologic assays for determination of Sars-CoV-2 IgG. *J Clin Virol*. 2020; 128: 104394.

AUTOR CORRESPONDENTE

Márcia Jorge Castejon  0000-0002-3525-740X
e-mail: marcia.castejon@ial.sp.gov.br



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.