

## Uso de Técnicas Moleculares no Diagnóstico Microbiológico: PCR e suas Variantes, Vantagens sobre Técnicas Convencionais e Desafios em Países em Desenvolvimento (Revisão)

*Use of Molecular Techniques in Microbiological Diagnosis: PCR and its Variants, Advantages over Conventional Techniques and Challenges in Developing Countries  
(Review)*

**Emidio Filipe Dique<sup>1</sup>, Cremildo Sebastião Simbine<sup>2</sup>, Mário Maganizo Junior<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Licenciado em Análises Clínicas e Laboratoriais pelo Instituto Superior de Gestão e Empreendedorismo Gwaza Muthini. Mestrando em Biologia Aplicada pela Universidade de Aveiro (Portugal). Técnico do Serviço Provincial de Saúde de Gaza, Moçambique.

E-mail: [emidiofilipedique@gmail.com](mailto:emidiofilipedique@gmail.com)

ORCID: 0009-0008-7622-8315

<sup>2</sup> Licenciado em Análises Clínicas e Laboratoriais pelo Instituto Superior de Gestão e Empreendedorismo Gwaza Muthini. Técnico do Centro de Saúde Urbano da Ponta-Gêa, Sofala, Moçambique.

E-mail: [cremildo86@gmail.com](mailto:cremildo86@gmail.com)

<sup>3</sup> Licenciado em Biomedicina Laboratorial pelo Instituto Superior de Ciências de Saúde, Maputo. Técnico do Hospital Geral de Mavalane, Maputo, Moçambique.

E-mail: [maganizojc23mario@gmail.com](mailto:maganizojc23mario@gmail.com)

Correspondência: [emidiofilipedique@gmail.com](mailto:emidiofilipedique@gmail.com)

### RESUMO

**Introdução:** O diagnóstico microbiológico preciso e oportuno é um pilar fundamental da medicina clínica e da saúde pública. Nas últimas décadas, as técnicas moleculares em especial a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e suas inumeráveis variantes revolucionaram a capacidade de detetar e caracterizar agentes infecciosos com sensibilidade e especificidade sem precedentes. **Objetivo:** Esta revisão narrativa tem como objetivo sistematizar o conhecimento disponível sobre as principais técnicas moleculares aplicadas ao diagnóstico microbiológico, com ênfase no PCR e suas variantes, discutindo suas vantagens em relação aos métodos convencionais e os

desafios para sua implementação em países de baixa e média renda. **Método:** Revisão narrativa da literatura publicada entre 2004 e 2024, consultando as bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, utilizando os descritores “molecular diagnostics”, “PCR microbiology”, “developing countries diagnostics” e termos relacionados. **Resultados e Discussão:** As técnicas moleculares, incluindo PCR convencional, PCR em tempo real (qPCR), PCR digital de gotículas (ddPCR), PCR multiplex e LAMP, demonstram superioridade diagnóstica em termos de rapidez, sensibilidade e especificidade em comparação com culturas microbianas e métodos imunológicos tradicionais. Contudo, sua implementação em países em desenvolvimento é limitada por barreiras de custo, infraestrutura laboratorial deficiente, escassez de pessoal qualificado e dependência de insumos importados. Tecnologias emergentes como os sistemas CRISPR/Cas e plataformas point-of-care representam caminhos promissores para superar tais limitações. **Conclusão:** A expansão do acesso a técnicas moleculares em contextos de recursos limitados requer investimento coordenado em políticas de saúde, formação de recursos humanos e parcerias internacionais.

**Palavras-chave:** Diagnóstico molecular; PCR; Microbiologia clínica; Países em desenvolvimento; point-of-care.

## ABSTRACT

**Introduction:** Accurate and timely microbiological diagnosis is a fundamental pillar of clinical medicine and public health. In recent decades, molecular techniques especially the Polymerase Chain Reaction (PCR) and its numerous variants have revolutionized the ability to detect and characterize infectious agents with unprecedented sensitivity and specificity. **Objective:** This narrative review aims to systematize available knowledge on the main molecular techniques applied to microbiological diagnosis, with emphasis on PCR and its variants, discussing their advantages over conventional methods and the challenges for their implementation in low- and middle-income countries. **Method:** Narrative review of literature published between 2004 and 2024, consulting PubMed, Scopus and Web of Science databases. **Results and Discussion:** Molecular techniques, including conventional PCR, real-time PCR (qPCR), droplet digital PCR (ddPCR), multiplex PCR and LAMP, demonstrate diagnostic superiority in terms of speed, sensitivity and specificity compared to microbial cultures and traditional immunological methods. However, their implementation in developing countries is limited by cost barriers, poor laboratory infrastructure, shortage of qualified personnel and dependence on imported supplies. Emerging technologies such as CRISPR/Cas systems and

point-of-care platforms represent promising pathways to overcome such limitations. Conclusion: Expanding access to molecular techniques in resource-limited settings requires coordinated investment in health policies, human resource training and international partnerships.

Keywords: Molecular diagnostics; PCR; Clinical microbiology; Developing countries; point-of-care.

## 1. INTRODUÇÃO

O diagnóstico microbiológico constitui a base sobre a qual repousa o manejo clínico eficaz das doenças infecciosas. Historicamente, os métodos de diagnóstico baseavam-se em cultura microbiológica, testes sorológicos e microscopia, técnicas que, embora robustas, apresentam limitações intrínsecas de sensibilidade, especificidade e tempo de resposta (Murray et al., 2016). O surgimento das técnicas moleculares, em particular a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), descrita por Kary Mullis em 1983 e amplamente adotada na clínica a partir dos anos 1990, representou uma inflexão paradigmática na Microbiologia (Mullis et al., 1986). Desde então, variantes cada vez mais sofisticadas têm emergido, expandindo as fronteiras do diagnóstico infeccioso.

As técnicas moleculares permitem a detecção direta de material genético de agentes patogênicos com precisão, rapidez e em quantidades extremamente baixas de material biológico. A sua aplicabilidade abrange bactérias, vírus, fungos e parasitas, incluindo organismos de difícil cultivo ou não cultiváveis (Persing et al., 2011). A pandemia de COVID-19, causada pelo SARS-CoV-2, demonstrou de forma inequívoca o papel central dessas técnicas na resposta a emergências de saúde pública, com o PCR em tempo real (RT-qPCR) tornando-se o padrão de referência global para o diagnóstico (Corman et al., 2020).

Paralelamente, persiste uma profunda assimetria global no acesso a essas tecnologias. Os países de baixa e média renda (PBMR), que suportam a maior carga de doenças infecciosas incluindo tuberculose, malária, HIV/AIDS e infecções negligenciadas, são frequentemente os que menos têm acesso ao diagnóstico molecular (Pai et al., 2012). Esta iniquidade diagnóstica contribui para atrasos no tratamento, disseminação de resistência antimicrobiana e mortalidade evitável (WHO, 2021).

Diante desse cenário, esta revisão narrativa tem como objetivo apresentar uma síntese abrangente das principais técnicas moleculares utilizadas no diagnóstico microbiológico, com foco no PCR e suas variantes, comparando-as com os métodos convencionais e discutindo os desafios específicos enfrentados pelos PBMR, bem como as perspectivas tecnológicas para superá-los.

## **2. MÉTODO**

Trata-se de uma revisão narrativa da literatura científica, conduzida entre outubro e dezembro de 2024. Foram consultadas as bases de dados PubMed/MEDLINE, Scopus e Web of Science. As estratégias de busca combinaram os descritores controlados (MeSH) e termos livres: "molecular diagnostics", "polymerase chain reaction", "real-time PCR", "qPCR", "digital PCR", "LAMP", "CRISPR diagnostics", "point-of-care diagnostics", "clinical microbiology", "low-income countries", "resource-limited settings" e "infectious diseases". Foram incluídos artigos originais, artigos de revisão, diretrizes e documentos de organismos internacionais publicados entre 2004 a 2024, em inglês, português e espanhol. Foram excluídos resumos de conferências sem texto completo disponível, cartas ao editor sem dados originais e estudos *in vitro* sem aplicação clínica descrita. A seleção foi realizada por dois revisores de forma independente, com resolução de divergências por consenso.

## **3. DESENVOLVIMENTO**

### **3.1 Fundamentos da Reação em Cadeia da Polimerase**

O PCR é uma técnica de amplificação *in vitro* de sequências específicas de DNA baseada em ciclos repetidos de desnaturação térmica, hibridização de iniciadores (primers) e extensão enzimática mediada pela DNA polimerase termoestável (Taq polimerase). Cada ciclo duplica teoricamente a quantidade de DNA-alvo, possibilitando a amplificação de bilhões de cópias a partir de uma única molécula template em poucas horas (Saiki et al., 1988).

A especificidade do PCR é determinada pelos primers, oligonucleotídeos sintéticos complementares às regiões flanqueadoras da sequência-alvo. A escolha adequada desses iniciadores é crítica para evitar reações cruzadas com sequências de organismos não-alvo. Os parâmetros de temperatura de anelamento, concentração de magnésio e composição do tampão influenciam diretamente a eficiência e especificidade da reação (Lorenz, 2012).

A partir do PCR convencional, inúmeras variantes foram desenvolvidas para expandir sua aplicabilidade, aumentar a sensibilidade, permitir quantificação absoluta e detetar múltiplos alvos simultaneamente. As principais variantes com relevância clínica são descritas nas secções seguintes.

## **3.2 Principais Variantes do PCR e suas Aplicações Clínicas**

### **3.2.1 PCR em Tempo Real (qPCR)**

O PCR quantitativo em tempo real (qPCR) representa a evolução mais amplamente adotada do PCR convencional no âmbito clínico. Esta técnica incorpora fluoróforos como o SYBR Green ou sondas TaqMan que emitem fluorescência proporcional à quantidade de produto amplificado, permitindo a monitorização em tempo real da cinética de amplificação e a quantificação absoluta ou relativa do ácido nucleico alvo (Bustin et al., 2009).

No diagnóstico microbiológico, o qPCR é aplicado na carga viral do HIV, quantificação do SARS-CoV-2, monitorização da tuberculose resistente, deteção de fungos sistémicos e diagnóstico de septicemia bacteriana, entre outras aplicações. A sua integração nos sistemas automatizados, como o GeneXpert (Cepheid), permitiu democratizar parcialmente o diagnóstico molecular em cenários de recursos limitados, particularmente para a tuberculose e o HIV (Lawn & Nicol, 2011).

### **3.2.2 RT-PCR (Reverse Transcription PCR)**

A transcrição reversa seguida de PCR (RT-PCR) é indispensável para a deteção de vírus de RNA, incluindo influenza, HIV, SARS-CoV-2, hepatite C e arbovírus como dengue, Zika e chikungunya. Nesta técnica, uma transcriptase reversa converte o RNA viral em DNA complementar (cDNA), que é então amplificado pelo PCR convencional ou quantitativo (Kubista et al., 2006). A combinação RT-qPCR tornou-se o padrão-ouro para o diagnóstico de infeções virais respiratórias, demonstrando sensibilidade superior a 95% para o SARS-CoV-2 em amostras nasofaríngeas coletadas nos primeiros cinco dias de sintomas (Corman et al., 2020).

### **3.2.3 PCR Multiplex**

O PCR multiplex utiliza múltiplos pares de primers em uma única reação, possibilitando a deteção simultânea de vários agentes etiológicos ou sequências-alvo. Esta abordagem é particularmente valiosa em síndromes clínicas de etiologia múltipla, como meningite, septicemia pediátrica, diarreia infecciosa e infeções respiratórias (Yang & Rothman, 2004). Painéis como o FilmArray (BioFire Diagnostics) detetam simultaneamente dezenas de patógenos em menos de 90 minutos a partir de amostras de sangue, liquor ou secreção respiratória, reduzindo significativamente o tempo para

diagnóstico etiológico e orientando a antibioticoterapia de forma mais racional (Ramanan et al., 2018).

### **3.2.4 PCR Digital de Gotículas (ddPCR)**

O PCR digital de gotículas (ddPCR) representa o estado da arte na quantificação absoluta de ácidos nucleicos. Nesta técnica, a amostra é particionada em milhares de microgotículas aquosas em óleo, cada uma contendo zero ou uma molécula-alvo. A amplificação individual em cada gotícula, seguida de análise digital, permite contagem direta das moléculas-alvo sem necessidade de curva padrão (Hindson et al., 2011). O ddPCR apresenta sensibilidade superior ao qPCR convencional, sendo especialmente útil na monitorização de reservatórios virais do HIV, deteção de mosaicismos genéticos em resistência antimicrobiana e controlo de qualidade de bancos de amostras biológicas (Strain et al., 2013).

### **3.2.5 LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification)**

A amplificação isotérmica mediada por loop (LAMP) constitui uma alternativa ao PCR que não requer termociclador, operando a temperatura constante (60–65 °C) com alta produção de amplicons num curto intervalo de tempo (30–60 minutos). O resultado pode ser visualizado a olho nu pela turvação do produto ou por indicadores colorimétricos, eliminando a necessidade de eletroforese ou equipamentos de fluorescência (Notomi et al., 2000).

Estas características tornam o LAMP particularmente atrativo para cenários de baixos recursos. Aplicações validadas incluem o diagnóstico de malária, tuberculose, leishmaniose, tripanossomiase, leptospirose e COVID-19. Estudos conduzidos na África Subsaariana demonstraram que plataformas LAMP portáteis apresentam desempenho comparável ao qPCR para o diagnóstico de malária em contextos comunitários (Hopkins et al., 2019).

### **3.2.6 Sequenciamento de Nova Geração (NGS) e Metagenómica**

O sequenciamento de nova geração (NGS), particularmente na modalidade metagenómica clínica (mNGS), permite a identificação não direcionada de todos os organismos presentes numa amostra clínica, incluindo patógenos incomuns, emergentes ou previamente desconhecidos. Esta abordagem tem demonstrado valor clínico expressivo no diagnóstico de encefalites de etiologia indeterminada, endocardites com culturas negativas e infeções em doentes imunodeprimidos (Wilson et al., 2019).

Apesar do enorme potencial, o custo elevado de equipamentos e consumíveis, a complexidade bioinformática e os longos tempos de processamento ainda limitam a sua adoção generalizada, especialmente nos PBMR. O surgimento do sequenciamento de

terceira geração (Oxford Nanopore), com plataformas portáteis como o MinION, poderá democratizar o acesso ao NGS em cenários de campo (Quick et al., 2016).

### **3.2.7 Diagnóstico Baseado em CRISPR/Cas**

Os sistemas CRISPR/Cas têm sido adaptados para plataformas de diagnóstico molecular de elevada sensibilidade e especificidade. As tecnologias SHERLOCK (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing) e DETECTR (DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter), baseadas respetivamente nas endonucleases Cas13 e Cas12a, permitem a deteção de ácidos nucleicos com sensibilidade até a nível de attomolar, com readout colorimétrico ou por fluorescência (Gootenberg et al., 2017; Chen et al., 2018).

Validações publicadas demonstram desempenho equivalente ou superior ao qPCR para SARS-CoV-2, dengue e HPV, com a vantagem adicional de serem compatíveis com formatos point-of-care de baixo custo. Estas tecnologias representam, potencialmente, o próximo paradigma no diagnóstico molecular, combinando precisão genómica com acessibilidade operacional.

### **3.3 Vantagens das Técnicas Moleculares sobre os Métodos Convencionais**

Os métodos microbiológicos convencionais como a cultura bacteriana, antibiograma, microscopia e testes imunológicos, apresentam limitações estruturais que comprometem o diagnóstico oportuno. A cultura microbiológica, considerada padrão-ouro histórico para muitas infeções bacterianas, requer entre 24 horas e 6 semanas para resultados conclusivos (no caso da tuberculose), não permite a deteção de organismos não cultiváveis e apresenta sensibilidade reduzida em amostras pré-tratadas com antibióticos (Murray et al., 2016).

Em contraste, as técnicas de PCR permitem a obtenção de resultados em 2 a 6 horas, com sensibilidade analítica capaz de detetar 1 a 10 cópias de DNA por mililitro de amostra (Lorenz, 2012). A especificidade, quando primers adequados são utilizados, supera 99% para a maioria dos alvos validados clinicamente. Esta combinação de rapidez, sensibilidade e especificidade tem impacto direto no prognóstico do doente, ao permitir o início precoce de terapia dirigida e reduzir o uso empírico de antibióticos de largo espectro.

Adicionalmente, as técnicas moleculares permitem a caracterização simultânea do agente etiológico e dos seus determinantes de resistência, como o caso do GeneXpert MTB/RIF, que deteta *Mycobacterium tuberculosis* e mutações conferindo resistência à rifampicina em menos de 2 horas (Lawn & Nicol, 2011). Esta informação, inacessível pela cultura convencional em tempo equivalente, orienta diretamente as decisões terapêuticas.

No contexto da pandemia de COVID-19, a superioridade do RT-qPCR sobre os testes rápidos de antígeno foi amplamente documentada, com sensibilidade 15 a 30 pontos percentuais superior em amostras colhidas precocemente (Corman et al., 2020). A capacidade de detetar carga viral baixa é particularmente relevante em indivíduos assintomáticos ou em fase pré-sintomática, onde o controle da transmissão depende da identificação precoce.

Do ponto de vista da vigilância epidemiológica e saúde pública, as técnicas moleculares permitem a caracterização filogenética e rastreamento de cadeias de transmissão, contribuindo para a resposta a surtos e para a detecção precoce de variantes emergentes de patógenos (Quick et al., 2016). A metagenômica clínica oferece ainda a possibilidade de identificar novos agentes etiológicos em tempo real, como demonstrado durante os surtos de Nipah, Ébola e COVID-19.

### **3.4 Desafios para a Implementação em Países em Desenvolvimento**

#### **3.4.1 Barreiras de Custo e Infraestrutura**

O custo é a barreira mais imediata ao acesso ao diagnóstico molecular nos PBMR. Um termociclador de qPCR pode custar entre 15.000 e 50.000 USD, enquanto os kits de reagentes para diagnóstico de tuberculose pelo GeneXpert custam entre 10 e 20 USD por teste — um valor proibitivo em sistemas de saúde onde o orçamento per capita em saúde pode ser inferior a 30 USD anuais (Pai et al., 2012). Embora programas como o PEPFAR (*President's Emergency Plan for AIDS Relief*) e a iniciativa UNITAID tenham subsidiado a aquisição de plataformas moleculares em vários países africanos, a sustentabilidade financeira a longo prazo permanece frágil (Denkinger et al., 2014).

A infraestrutura laboratorial inadequada agrava este cenário. Muitos laboratórios em PBMR carecem de fornecimento estável de eletricidade, sistemas de armazenamento refrigerado para reagentes, controle de temperatura e humidade, e gestão adequada de resíduos biológicos. A cadeia de frio para transporte de amostras até laboratórios centrais onde equipamentos moleculares estão disponíveis frequentemente falha, comprometendo a qualidade da amostra e o resultado diagnóstico (Scott et al., 2011).

#### **3.4.2 Recursos Humanos e Capacitação**

A escassez de profissionais com formação em biologia molecular representa outro obstáculo estrutural. A operação e manutenção de equipamentos de PCR, a interpretação de resultados e a garantia de qualidade analítica requerem competências técnicas que frequentemente extrapolam a formação disponível nos sistemas de ensino superior dos PBMR. A migração de profissionais qualificados para países de alta renda, fenómeno conhecido como "fuga de cérebros" exacerba esta escassez (Labonté et al., 2006).

Programas de capacitação conduzidos por organizações como a Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND) e o África CDC têm contribuído para o desenvolvimento de competências laboratoriais locais, mas o impacto ainda é insuficiente perante a magnitude da necessidade. A rotatividade de pessoal técnico nos serviços públicos de saúde prejudica a retenção de competências adquiridas.

### **3.4.3 Dependência de Insumos Importados e Propriedade Intelectual**

A quase totalidade dos kits e equipamentos de diagnóstico molecular é produzida em países de alta renda, criando uma dependência estrutural que se tornou agudamente visível durante a pandemia de COVID-19. Restrições à exportação, rotura de cadeias de abastecimento e flutuações cambiais impediram que vários PBMR acessem a kits de PCR para SARS-CoV-2, comprometendo as estratégias nacionais de resposta à pandemia (Gilbert et al., 2020).

As patentes que protegem tecnologias-chave, incluindo a Taq polimerase e várias plataformas de qPCR, limitam a produção local e mantêm os preços elevados. Embora o período de proteção de muitas dessas patentes tenha expirado, a transferência efetiva de tecnologia para os PBMR permanece limitada por ausência de capacidade industrial local e de acordos de licenciamento favoráveis (Denkinger et al., 2014).

### **3.4.4 Ausência de Programas de Garantia da Qualidade**

A garantia da qualidade analítica é condição sine qua non para a utilidade clínica do diagnóstico molecular. Em muitos PBMR, a ausência de programas de avaliação externa da qualidade (EQA), controles internos sistemáticos e processos de validação de ensaios leva a resultados não confiáveis que podem ter consequências clínicas graves, incluindo falsos negativos em doenças transmissíveis com impacto para a saúde pública (Scott et al., 2011).

Iniciativas internacionais como o programa WHO EQAS para tuberculose e o Global Laboratory Initiative têm contribuído para a implementação de redes de controlo da qualidade em países de rendimento baixo e médio, mas a cobertura geográfica e a sustentabilidade desses programas permanecem desafios não resolvidos.

### **3.5 Tecnologias Emergentes e Perspetivas para Contextos de Recursos Limitados**

O desenvolvimento de plataformas de diagnóstico point-of-care (POC) baseadas em princípios moleculares representa a convergência mais promissora entre precisão diagnóstica e acessibilidade. Sistemas como o GeneXpert Edge, o Abbot ID NOW, o Truenat e o Xpert Omni foram projetados para operação em ambientes com recursos limitados, combinando automação do processo de extração, amplificação e deteção em

cartuchos fechados, com requisitos de energia compatíveis com fontes alternativas (Denkinger et al., 2014).

O sequenciamento de nanoporos (Oxford Nanopore Technologies) com o dispositivo MinION tem sido utilizado com sucesso em cenários de campo em África para sequenciamento em tempo real de Ébola, Lassa e SARS-CoV-2, demonstrando que tecnologias de ponta podem ser adaptadas a contextos de recursos limitados com suporte técnico e logístico adequado (Quick et al., 2016).

As plataformas CRISPR-based, com custo de produção potencialmente muito inferior ao qPCR e compatibilidade com readouts colorimétricos de campo, são candidatas de elevado interesse para o diagnóstico em PBMR. Estudos de validação em África Subsaariana para malária, HIV e SARS-CoV-2 estão em curso, com resultados preliminares promissores (Gootenberg et al., 2017).

A inteligência artificial e a análise de dados em tempo real têm o potencial de apoiar a interpretação de resultados moleculares em contextos de baixa densidade de especialistas, conectando laboratórios remotos a centros de referência por telemedicina diagnóstica. Estas abordagens híbridas de tecnologia e conectividade podem contribuir para superar a escassez de recursos humanos qualificados.

#### **4. CONCLUSÃO**

As técnicas moleculares, em particular o PCR e suas variantes, transformaram o diagnóstico microbiológico ao oferecer sensibilidade, especificidade, rapidez e versatilidade muito superiores aos métodos convencionais. A sua integração na prática clínica e na saúde pública tem impacto mensurável na redução da mortalidade por doenças infecciosas, na contenção da resistência antimicrobiana e na resposta a emergências epidémicas.

Contudo, a iniquidade global no acesso a estas tecnologias constitui um imperativo ético e de saúde pública de primeira ordem. Os países em desenvolvimento, que enfrentam as maiores cargas de doenças infecciosas, permanecem sistematicamente sub-equipados para realizar diagnóstico molecular. A superação desta iniquidade requer uma abordagem multidimensional que inclua: financiamento sustentável e diversificado, desenvolvimento de capacidade laboratorial local, formação e retenção de recursos humanos qualificados, produção local de insumos e transferência de tecnologia, implementação de plataformas POC adaptadas e programas robustos de garantia da qualidade.

As tecnologias emergentes CRISPR/Cas, sequenciamento de nanoporos e diagnóstico baseado em inteligência artificial, oferecem janelas de oportunidade para

reduzir a lacuna diagnóstica, desde que acompanhadas de vontade política, investimento em investigação adaptada a contextos locais e parcerias equitativas entre países de alto e baixo rendimento. O diagnóstico molecular universal não é apenas uma aspiração tecnológica, mas uma condição necessária para a equidade em saúde global.

#### **Declaração de Conflito de Interesses**

Os autores declaram não existir conflito de interesses.

#### **Financiamento**

Esta revisão não recebeu financiamento específico de agências dos sectores público, comercial ou sem fins lucrativos.

## **REFERÊNCIAS**

- Bustin, S. A., Benes, V., Garson, J. A., Hellemans, J., Huggett, J., Kubista, M., Mueller, R., Nolan, T., Pfaffl, M. W., Shipley, G. L., Vandesompele, J., & Wittwer, C. T. (2009). The MIQE guidelines: Minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. *Clinical Chemistry*, 55(4), 611–622. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2008.112797>
- Chen, J. S., Ma, E., Harrington, L. B., Da Costa, M., Tian, X., Palefsky, J. M., & Doudna, J. A. (2018). CRISPR-Cas12a target binding unleashes indiscriminate single-stranded DNase activity. *Science*, 360(6387), 436–439. <https://doi.org/10.1126/science.aar6245>
- Corman, V. M., Landt, O., Kaiser, M., Molenkamp, R., Meijer, A., Chu, D. K. W., Bleicker, T., Brünink, S., Schneider, J., Schmidt, M. L., Mulders, D. G. J. C., Haagmans, B. L., van der Veer, B., van den Brink, S., Wijsman, L., Goderski, G., Romette, J.-L., Ellis, J., Zambon, M., ... Drosten, C. (2020). Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Eurosurveillance*, 25(3), Article 2000045. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.3.2000045>
- Denkinger, C. M., Grenier, J., Minion, J., Pai, M., & Pant Pai, N. (2014). Promise and pitfalls of point-of-care diagnostics for HIV and tuberculosis in resource-limited settings. *Journal of Infectious Diseases*, 210(Suppl. 3), S451–S457. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiu344>
- Gilbert, G. L., Kerridge, I., & Letts, L. (2020). Ethics of COVID-19 diagnostic testing: Equity, efficiency, and justice. *Journal of Medical Ethics*, 46(11), 739–742. <https://doi.org/10.1136/medethics-2020-106735>
- Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Lee, J. W., Essletzbichler, P., Dy, A. J., Joung, J., Verdine, V., Donghia, N., Daringer, N. M., Freije, C. A., Myhrvold, C., Bhattacharyya, R.

- P., Livny, J., Regev, A., Koonin, E. V., Hung, D. T., Sabeti, P. C., Collins, J. J., & Zhang, F. (2017). Nucleic acid detection with CRISPR-Cas13a/C2c2. *Science*, 356(6336), 438–442. <https://doi.org/10.1126/science.aam9321>
- Hindson, B. J., Ness, K. D., Masquelier, D. A., Belgrader, P., Heredia, N. J., Makarewicz, A. J., Bright, I. J., Lucero, M. Y., Hiddessen, A. L., Legler, T. C., Kitano, T. K., Hodel, M. R., Petersen, J. F., Wyatt, P. W., Steenblock, E. R., Shah, P. H., Bousse, L. J., Troup, C. B., Mellen, J. C., ... Colston, B. W. (2011). High-throughput droplet digital PCR system for absolute quantitation of DNA copy number. *Analytical Chemistry*, 83(22), 8604–8610. <https://doi.org/10.1021/ac202028g>
- Hopkins, H., González, I. J., Polley, S. D., Mowlaboccus, S., Mahajan, S., Goel, A. K., Singh, A. K., & Bell, D. (2019). Highly sensitive detection of malaria parasitemia in a malaria-endemic setting: Performance of a new loop-mediated isothermal amplification kit in a remote clinic in Uganda. *Journal of Infectious Diseases*, 208(4), 645–652. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit236>
- Kubista, M., Andrade, J. M., Bengtsson, M., Forootan, A., Jonák, J., Lind, K., Sindelka, R., Sjöback, R., Sjögreen, B., Strömbom, L., Ståhlberg, A., & Zoric, N. (2006). The real-time polymerase chain reaction. *Molecular Aspects of Medicine*, 27(2–3), 95–125. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2005.12.007>
- Labonté, R., Packer, C., Klassen, N., Kazanjian, A., Aplan, L., Adalikwu, J., Nyambedha, E., & Nindorera, M. (2006). The brain drain of health professionals from sub-Saharan Africa to Canada. *African Health Professions Regulatory Collaborative for Nurses and Midwives. Southern African Migration Project*. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-26021-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-319-26021-1_2)
- Lawn, S. D., & Nicol, M. P. (2011). Xpert® MTB/RIF assay: Development, evaluation and implementation of a new rapid molecular diagnostic for tuberculosis and rifampicin resistance. *Future Microbiology*, 6(9), 1067–1082. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.84>
- Lorenz, T. C. (2012). Polymerase chain reaction: Basic protocol plus troubleshooting and optimization strategies. *Journal of Visualized Experiments*, (63), Article e3998. <https://doi.org/10.3791/3998>
- Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., & Erlich, H. (1986). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: The polymerase chain reaction. *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, 51(Pt 1), 263–273. <https://doi.org/10.1101/sqb.1986.051.01.032>
- Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2016). *Medical microbiology* (8th ed.). Elsevier.
- Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N., & Hase, T. (2000). Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12), Article e63. <https://doi.org/10.1093/nar/28.12.e63>
- Pai, M., Ramsay, A., & O'Brien, R. (2008). Evidence-based tuberculosis diagnosis. *PLOS Medicine*, 5(7), Article e166. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0050156>
- Persing, D. H., Tenover, F. C., Hayden, R. T., Ieven, M., Miller, M. B., Nolte, F. S., Tang, Y.-W., & van Belkum, A. (Eds.). (2011). *Molecular microbiology: Diagnostic principles and practice* (2nd ed.). ASM Press. <https://doi.org/10.1128/9781555816834>

- Quick, J., Loman, N. J., Duraffour, S., Simpson, J. T., Severi, E., Cowley, L., Bore, J. A., Koundouno, R., Dudas, G., Mikhail, A., Ouédraogo, N., Afrough, B., Bah, A., Baum, J. H. J., Becker-Ziaja, B., Boettcher, J. P., Cabeza-Cabrerizo, M., Camino-Sánchez, Á., Carter, L. L., ... Carroll, M. W. (2016). Real-time, portable genome sequencing for Ebola surveillance. *Nature*, 530(7589), 228–232. <https://doi.org/10.1038/nature16996>
- Ramanan, P., Bryson, A. L., Binnicker, M. J., Pritt, B. S., & Patel, R. (2018). Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 31(1), Article e00024-17. <https://doi.org/10.1128/CMR.00024-17>
- Saiki, R. K., Gelfand, D. H., Stoffel, S., Scharf, S. J., Higuchi, R., Horn, G. T., Mullis, K. B., & Erlich, H. A. (1988). Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science*, 239(4839), 487–491. <https://doi.org/10.1126/science.2448875>
- Scott, L. E., Gous, N., & Stevens, W. S. (2011). Laboratory infrastructure and diagnostics for biosafety level 2 and 3 organisms in sub-Saharan Africa. *Future Microbiology*, 6(2), 137–148. <https://doi.org/10.2217/fmb.10.167>
- Strain, M. C., Lada, S. M., Luong, T., Rought, S. E., Gianella, S., Terry, V. H., Spina, C. A., Woelk, C. H., & Richman, D. D. (2013). Highly precise measurement of HIV DNA by droplet digital PCR. *PLOS ONE*, 8(4), Article e55943. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055943>
- Wilson, M. R., Sample, H. A., Zorn, K. C., Arevalo, S., Yu, G., Neuhaus, J., Federman, S., Stryke, D., Briggs, B., Langelier, C., Berger, A., Reyes, K., Frias, E. C., Dzenk, E., Cho, T. A., Douglas, V., Greenberg, B., Liu, H. M., Benson, L., ... DeRisi, J. L. (2019). Clinical metagenomic sequencing for diagnosis of meningitis and encephalitis. *New England Journal of Medicine*, 380(24), 2327–2340. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1803396>
- World Health Organization. (2021). Global tuberculosis report 2021. WHO. <https://iris.who.int/server/api/core/bitstreams/e7137444-9b96-4d4f-b5cc-c038596b5b28/content>
- Yang, S., & Rothman, R. E. (2004). PCR-based diagnostics for infectious diseases: Uses, limitations, and future applications in acute-care settings. *Lancet Infectious Diseases*, 4(6), 337–348. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(04\)01044-8](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(04)01044-8)