



Universidade Federal do Ceará

**Faculdade Farmácia,
Odontologia e Enfermagem**

***GUIA TÉCNICO DE USO DE KIT TESTE RÁPIDO
PARA COVID-19 POR PUNÇÃO DIGITAL***



2020

Universidade Federal do Ceará
Faculdade Farmácia, Odontologia e Enfermagem

**GUIA TÉCNICO DE USO DE KIT TESTE RÁPIDO PARA COVID-19 POR PUNÇÃO
DIGITAL**

2020

Universidade Federal do Ceará

Reitor

José Cândido Lustosa Bittencourt de Albuquerque

Vice-Reitor

José Glauco Lobo Filho

Diretora da Faculdade Farmácia, Odontologia e Enfermagem

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage

Vice-Diretora da Faculdade Farmácia, Odontologia e Enfermagem

Ana Karina Bezerra Pinheiro

Elaboração Técnica:

Comissão Especial da FFOE para elaboração de guia de orientação sobre técnica de realização de teste rápido e notificação de casos de Covid-19

Composição:

Fabiane da Silva Severino Lima – Graduada em Enfermagem. Mestre em Cuidados Clínicos em Enfermagem e Saúde. Atua no Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

Nila Larisse Silva de Albuquerque - Graduada em Enfermagem. Mestre em Enfermagem e Doutoranda em Enfermagem pela Universidade Federal do Ceará. Atua no Departamento de Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

Eudiana Vale Francelino – Graduada em Farmácia. Doutora em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas- UFC. Atua no Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará.

Mylenne Borges Jácome Mascarenhas – Graduada em Farmácia. Doutoranda em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas- UFC. Atua no Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Ceará.

Revisor de Conteúdo

Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage – Graduada em Odontologia. Possui pós-doutorado em Ciências Fisiológicas pela Universidade Estadual de Campinas. Diretora da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

Ana Karina Bezerra Pinheiro – Graduada em Enfermagem. Doutora em Enfermagem pela Universidade Federal do Ceará. Vice-diretora da Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem da Universidade Federal do Ceará.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca de Ciências da Saúde

G971 Guia técnico de uso de kit teste rápido para COVID-19 por punção digital / Fabiane da Silva Severino Lima...[et al.]. – Fortaleza: Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, 2020.
44 f. : il. color.

Formato: Livro digital.

Revisão de conteúdo: Lidiany Karla Azevedo Rodrigues Gerage e Ana Karina Bezerra Pinheiro.
ISBN: 978-65-00-04464-5.

1. Infecções por Coronavírus. 2. Kit de Reagentes para Diagnóstico. 3. Testes Imunológicos. I. Lima, Fabiane da Silva Severino. II. Albuquerque, Nila Larisse Silva de. III. Francelino, Eudiana Vale. IV. Mascarenhas, Mylenné Borges Jácome. V. Título.

CDD 616.2414

Ficha catalográfica elaborada pela bibliotecária:
Nicácia Lina do Carmo CRB-3/1338

SUMÁRIO

1. Contextualização.....	6
1.1 Testes disponíveis.....	6
1.2 RT-PCR	6
1.3 Testes sorológicos	7
1.3.1 Considerações específicas sobre o teste rápido sorológico.....	8
2. Objetivo	10
3. Público alvo da realização do teste rápido.....	10
4. Recomendações sobre local de realização do teste rápido.....	11
5. Procedimento para agendamento do teste rápido	11
6. O kit de Teste Rápido para COVID-19.....	11
6.1 Princípio de ação.....	11
6.2 Materiais inclusos.....	13
6.3 Acondicionamento	15
7. Paramentação recomendada para aplicação do teste rápido	16
7.1 Equipamentos de Proteção Individual necessários.....	16
7.2 Passo a passo da paramentação.....	17
7.2.1 Utilização de Protetor facial/Face shield.....	17
7.2.2 Utilização de óculos de proteção.....	18
7.2.3 Recomendações para colocação dos itens.....	19
8. Procedimento para realização do teste rápido para covid-19, por punção digital.....	22
8.1 interpretação do resultado.....	26
8.2 Limitações do teste.....	28
8.3 Conduta a ser orientada a partir dos resultados dos exames.....	28
8.4 Procedimentos para registro e notificação de resultados.....	30
9. Descarte dos materiais	30
10. Desparamentação recomendada após aplicação de testes rápido	31
10.1. Utilização de Protetor facial/Face shield.....	31
10.2. Utilização de óculos de proteção.....	32
10.3 Recomendações para retirada dos itens.....	32
11. Referências.....	35
APÊNDICE A - INSTRUMENTO EPIDEMIOLÓGICO PARA APLICAÇÃO A PESSOAS TESTADAS PARA COVID-19.....	37
APÊNDICE B – Procedimento Operacional Padrão sobre procedimento de realização de teste rápido para COVID-19, com coleta de sangue total por punção digital.....	39
APÊNDICE C - Modelo de laudo de teste rápido para COVID-19.....	43

1. Contextualização

A COVID-19 é uma doença infecciosa causada pelo vírus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2* (SARS-CoV-2), convencionalmente chamado de novo coronavírus. Possui período médio de incubação de 5,5 dias e aparecimento de sintomas em até 11 dias em 97,5% das pessoas infectadas.

A pandemia da COVID-19 já trouxe consequências devastadoras para a humanidade. Além do número de pessoas mortas pela doença, os impactos econômicos e sociais ainda são incalculáveis. A velocidade de propagação do vírus, a existência ao longo da fonte de infecção e dificuldade de bloqueio completo da transmissão em um grande contingente populacional suscetível torna razoável pensar na presença da doença por um longo período.

O avanço sustentado de casos de COVID-19 no mundo tem sido acompanhado da formulação de planos para respostas rápidas à disseminação da doença. Nesses, estão incluídas ações de detecção precoce, isolamento, vigilância epidemiológica, medidas de prevenção e controle, bem como a avaliação de impactos sanitários.

A identificação de casos da doença é fundamental para a adoção de terapias medicamentosas e isolamento de indivíduos, bem como de seus contatos recentes. Ademais, o diagnóstico faz-se necessário ao acompanhamento da evolução da doença, que irá determinar as respostas adequadas ao enfrentamento de cada fase da epidemia. Para tanto, a realização de testes deve ser ampla. Em contextos de disponibilidade limitada de testes, devem ser estabelecidos protocolos que indiquem grupos populacionais prioritários para a identificação da doença em sua fase ativa e de anticorpos indicativos de infecção anterior.

1.1. Testes disponíveis

É notório que nenhum teste possui 100% de acurácia. Todos os testes devem ser comparados a um padrão-ouro para avaliar sua sensibilidade e especificidade.

1.2. RT-PCR

Ainda que o RT-PCR seja considerado o instrumento laboratorial mais adequado para diagnosticar a COVID-19, evidências disponíveis na literatura apontam que esse teste apresenta resultados falso-negativos em frequências que variam entre 2% e 29%, o que foi atestado quando testes negativos foram repetidos. Assim, o padrão-ouro mais acurado, até o momento, é representado pela repetição de RT-PCR diante do primeiro resultado negativo.

A variação de sensibilidade e especificidade do RT-PCR nos estudos citados advém da qualidade e da origem da amostra, bem como do estágio da doença, coinfeção com outros vírus e do risco de recombinação e mutação viral. Um estudo mostra que em amostras de lavagem bronco-alveolar tem-se a maior sensibilidade do RT-PCR, de aproximadamente 93%. Em amostras de escarro identificou-se sensibilidade de 72%, em *swabs* nasais 63% e 32% em *swabs* de garganta.

1.3. Testes sorológicos

Testes sorológicos são aqueles que detectam imunoglobulinas, incluindo IgG e IgM, com objetivo de identificar indivíduos que apresentaram a infecção previamente e estão, teoricamente, imunes a novas contaminações pela doença. Em um cenário de boa acurácia dos testes sorológicos, seus resultados podem contribuir para tomada de decisões no tocante ao afrouxamento de medidas de isolamento, reabertura da sociedade e retorno de profissionais de saúde às suas atividades. Entretanto, acurácia, sensibilidade e especificidade de testes sorológicos são inferiores às do RT-PCR, o que torna seu uso limitado.

A OMS recomenda o uso de testes rápidos sorológicos somente para fins de pesquisa. A sua utilização para diagnóstico não é indicada nos laboratórios públicos e privados.

O teste sorológico apresenta vantagem em relação ao RT-PCR, por apresentar um tempo de resposta mais rápido, alto rendimento e menos carga de trabalho. No entanto, o seu valor clínico depende, em grande parte, das respostas de soroconversão de anticorpos do hospedeiro durante a infecção. E por ser um vírus emergente, a cinética e extensão da resposta humoral do paciente ainda não são totalmente conhecidos.

A taxa de soroconversão e os níveis de anticorpos vai depender da fase da doença, apresentando uma elevação maior após 05 (cinco) dias do início dos sintomas, com valores medianos mais elevados de soroconversão de IgM e IgG entre nos dias 12 e 14, respectivamente e permanecendo elevado em níveis sanguíneos por tempo máximo ainda não evidenciado na literatura atual.

Assim como nas demais infecções virais, a elevação de IgM é um marcador para doença aguda, apresentando, portanto, uma produção mais rápida após a infecção, em relação à produção de IgG. A detecção inicial de IgM pode ser utilizada como ferramenta associada à análise de RNA, para aprimorar a sensibilidade e precisão da detecção.

O uso da sorologia pode ser de forma complementar à detecção de RNA pelo RT-PCR, durante o curso da doença, porém seu resultado isolado não pode ser usado como critério diagnóstico para a COVID-19.

No entanto, o uso dos testes sorológicos podem ser utilizados para: a) triagem de casos sintomáticos suspeitos, com diagnósticos ainda não definido pelo RT-PCR, pois o resultado positivo do anticorpo aumenta a probabilidade do diagnóstico de COVID-19; b) o monitoramento de contactante saudável, uma vez que o resultado reagente da sorologia revela que o contactante pode ser um possível portador assintomático, levando o alerta para a necessidade da confirmação diagnóstica pelo teste de RNA e para o isolamento pessoal e de seus contatos próximos; 3) para o monitoramento imunológico de pessoas que testaram positivo pelo teste de RNA, com o controle da indução da soroconversão de anticorpos específicos; uso em estudos epidemiológicos de análise imunológica da doença.

Os testes sorológicos aprovados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) utilizam amostras de sangue, soro ou plasma e usam uma metodologia variadas para a detecção de anticorpos na amostra. Os testes rápidos utilizam a metodologia da imunocromatografia, em que há a geração de cor a partir de uma reação entre o antígeno (substância estranha ao organismo) e o anticorpo (elemento de defesa do organismo) para detectar os chamados de IgM e IgG.

Outros testes sorológicos sanguíneos também foram aprovados pela Anvisa, como aqueles com o uso do método ELISA, que se baseia numa reação enzimática para detecção; e o método de imunoenensaio quimioluminescente (CLIA), que torna a reação antígeno-anticorpo visível por uma reação química e a leitura do resultado é feita a partir da fluorescência formada na reação do antígeno com o anticorpo.

1.3.1. Considerações específicas sobre o teste rápido sorológico

Os testes rápidos para COVID 19 estão sendo largamente utilizados por serem de fácil execução, não necessitarem de operadores especializados, terem um custo menor e permitirem o resultado em poucos minutos.

Há diversas marcas no mercado internacional e nacional. Porém, o Ministério da Saúde (MS) somente recomenda o uso dos testes rápido aprovados pela Anvisa, por meio da Resolução-RE nº 777, de 18 de Março de 2020 e outras similares emitidas posteriormente.

Para fins didáticos, será apresentado neste guia, as recomendações e procedimentos adequados a serem utilizados para uso de kit teste rápido já aprovado pela Anvisa.



Fig. 1 – Demonstrativo de embalagem de kit de teste rápido aprovado pela Anvisa.

Trata-se de um teste qualitativo, que utiliza como método de análise o ensaio imunocromatográfico para detecção rápida e qualitativa dos anticorpos IgG e IgM do SARS-COV2.

Amostras humanas e a forma de coleta que podem ser utilizadas no teste dependem da indicação contida na bula do fabricante. Em geral, indica-se o uso de:

- Sangue total (coleta venosa ou coleta por punção digital);
- Soro; ou
- Plasma humano.

Contudo, para fins desse guia técnico, somente será considerado o **uso da amostra de sangue total, obtida por punção digital**.

A depender da marca do teste utilizada, alguns permitem a sinalização específica da presença de cada anticorpo, IgM e IgG, na região teste do cassete. Enquanto outros modelos sinalizam somente uma linha na região de teste, que identifica a presença de qualquer um dos anticorpos, sem a identificação específica de cada um.

Atenção!

O resultado do teste rápido, de forma isolada, não pode ser usado como diagnóstico da COVID-19. Ele somente pode ser utilizado para fins de **triagem, auxílio diagnóstico e acompanhamento imunológico e epidemiológico** da doença, por não apresentar níveis de acurácia que lhe permitam ser utilizado como critério diagnóstico de forma isolada.

O teste é de uso **exclusivamente** profissional e os seus resultados devem ser interpretados por um profissional de saúde, considerando: **informações clínicas, sinais e sintomas do paciente**, além de outros exames, como o RT-PCR, que é o único utilizado atualmente para o diagnóstico da doença. Ou seja, o teste rápido fornece parte das informações, devendo estas estarem associadas com os dados clínicos e outros exames laboratoriais confirmatórios para a determinação do resultado.

2. Objetivo

Orientar a realização de testes rápidos para COVID-19, com utilização de sangue total e coleta por punção digital.

3. Público alvo prioritário da realização do teste rápido

Para um melhor uso do teste rápido, indica-se que seja utilizado em pessoas que tenham sido expostas a pessoas confirmadas com a COVID-19 há pelo menos 10 dias ou em pessoas sintomáticas a partir do 8º dia dos sintomas iniciais, para que a detecção dos anticorpos ocorra com maior precisão, a depender da limitação do teste e da indicação do fabricante. Esse tempo é necessário para assegurar que haverá anticorpos suficientes no organismo que possam ser detectáveis por esse método.

Entende-se como sintomas compatíveis com o quadro clínico da COVID-19: tosse seca, febre, coriza, dor de garganta, dificuldade respiratória, perda ou diminuição do olfato (anosmia) ou do paladar (disgeusia), dentre outros. Essa caracterização poderá ser alterada, conforme protocolo do Ministério da Saúde e da Organização Mundial de Saúde.

4. Recomendações sobre local de realização do teste

Os testes rápidos para COVID-19 devem ser realizados em estabelecimentos de assistência à saúde, ou em locais que estejam sob supervisão de um serviço de assistência e sempre por um profissional de saúde devidamente habilitado e treinado para essa finalidade.

Os espaços deverão dispor de infraestrutura básica, incluindo: mobiliário adequado ao armazenamento dos materiais necessários e ao posicionamento da equipe de coleta e do paciente, temperatura apropriada ao acondicionamento dos testes, computador com conexão à internet para consulta e cadastro da pessoa avaliada, lixeiras para descarte de material biológico, perfurocortante e não contaminado e ambiente que propicie privacidade aos indivíduos.

5. Procedimento para agendamento do teste rápido

Para fins de evitar aglomeração de pessoas em um mesmo espaço, orienta-se que os testes sejam aplicados de forma planejada, em horários específicos, com limitação da presença de pessoas e com o devido distanciamento social. Recomenda-se, por medida de segurança, que os testes sejam realizados por agendamento.

6. O kit de Teste Rápido para COVID-19

6.1 Princípio de ação

O teste rápido sorológico para COVID-19 adota o método de análise por imunocromatografia. É baseado no princípio do imunoensaio de captura para determinação dos anticorpos SARS CoV 2 IgG / IgM no sangue total, soro e plasma humanos. Utiliza uma membrana de nitrocelulose subdividida nas seguintes partes:

- S- Poço da solução tampão: Local onde deve ser colocada a dose recomendada da solução tampão;
- A- Poço de amostra: Local onde deve ser colocada a dose recomendada da amostra (sangue total, soro ou plasma);
- I- Área intermediária: local onde contém o conjugado SARS CoV 2 antígeno corante;
- T- Área de teste: local onde contém os antígenos fixados à membrana de nitrocelulose, onde se lê o resultado da amostra testada. Essa área poderá determinar o aparecimento de uma linha

única, que indica a presença de qualquer um dos anticorpos avaliados (IgM e IgG), como mostra a Fig. 4.II, como pode permitir o aparecimento de duas linhas, sendo cada uma representante de um dos anticorpos avaliados, indicado pela Fig. 4.I;

C- Área de controle: local de controle da reação e que permite a validação do teste.

Quando a amostra (A) é adicionada ao poço de reação no dispositivo de teste, a amostra é absorvida por ação capilar, mistura-se com o conjugado SARS CoV 2 antígeno corante e flui através da membrana pré-revestida. Os anticorpos da amostra fluem lateralmente pela membrana, passando pela área I, onde se inicia a ligação com o conjugado e prosseguem em direção à área de teste (T).

Quando o nível de anticorpos SARS CoV 2 na amostra for igual ou superior à faixa de *cut off* (limite mínimo de detecção do teste), os anticorpos ligados ao conjugado antígeno corante são capturados pelo anticorpo anti-IgG ou IgM humano e capturados pelo complexo anticorpo anti μ da cadeia imobilizado na região de teste (T) do dispositivo, e isso produz uma banda de teste colorida que indica um resultado positivo, que poderá aparecer na visualização de linha única na região T, no caso de modelos que não permitem a diferenciação do tipo de anticorpo, como poderá aparecer linhas específicas para cada anticorpo detectado.

Quando o nível de anticorpo SARS CoV 2 na amostra for zero ou abaixo do *cut off*, não há uma faixa colorida visível na região de teste (T) do dispositivo. Isso indica um resultado negativo. Para servir como controle de procedimento, uma linha colorida aparecerá na Região de Controle (C), se o teste tiver sido realizado corretamente. O conjugado não ligado ao anticorpo e o excesso do complexo imune continuam a migração, ao longo da membrana de nitrocelulose, em direção à área C, onde são capturados por anticorpos anti-imunoglobulina, formando outra linha (ou banda) colorida, indicando que o teste está válido.

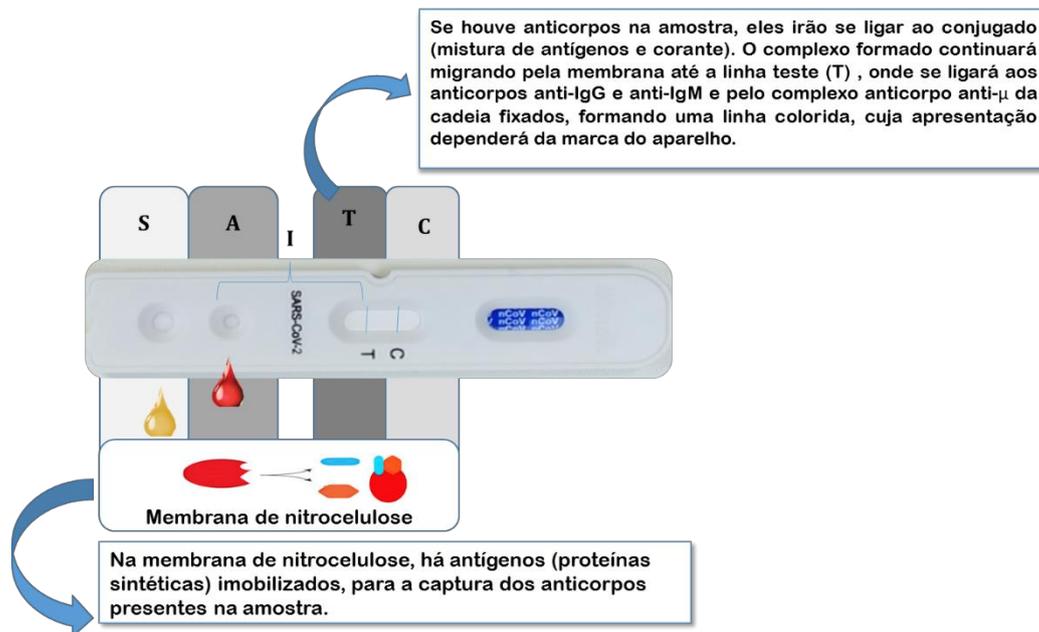


Fig. 2. Imagem ilustrativa para demonstrar a ação por imunocromatografia para identificação da presença do anticorpo IgG e IgM para Covid-19.

6.2 Materiais incluídos

O kit de teste rápido deverá conter:

- unidades de dispositivos de Teste/Cassetes de testes;
- unidades de tubo capilar descartáveis;
- 01 (uma) unidade de solução conta gotas tampão de cerca de 6 ml;
- 01 (uma) unidade de Instrução de uso.

A quantidade de unidades dispositivos de teste/cassetes e tubos capilares em um kit de teste rápido sorológico vai depender da marca adquirida.

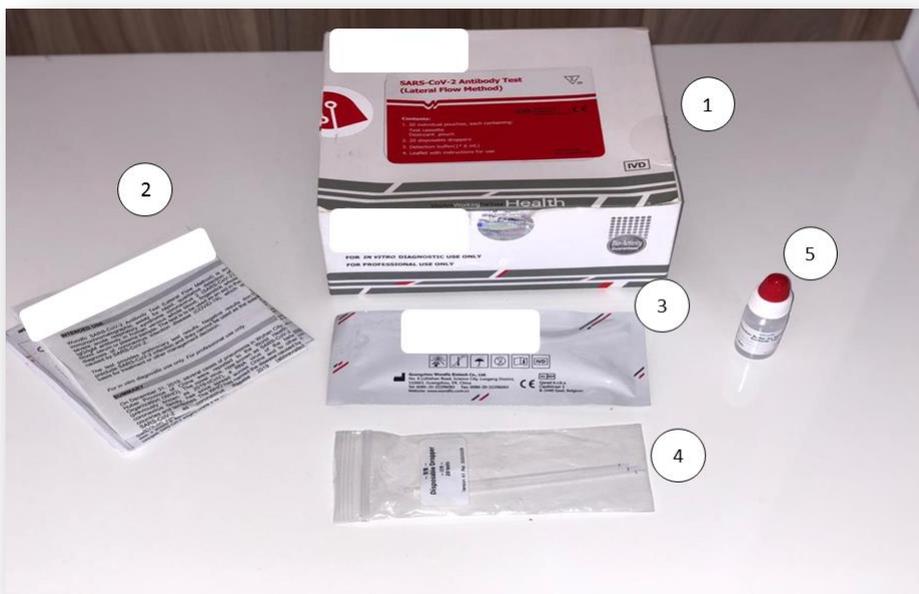


Fig. 3 – Imagem ilustrativa para apresentar os componentes de um Kit de teste rápido sorológico para COVID-19.

Legenda:

1 – Caixa do kit de teste rápido; 2 – Guia de Instrução; 3 – 01 (uma) unidade de Dispositivo de Teste/Cassetes de teste; 4 – Envelope contendo unidades de contas gotas/tubos capilares descartáveis; 5 – 01 (uma) unidade de solução tampão de cerca de 6 ml.

Outros materiais são necessários para a realização do teste e que não são fornecidos no kit.

São eles:

- Lanceta estéril (Para evitar acidentes, recomenda-se o uso de lanceta de segurança estéril);
- Cronômetro ou relógio;
- Álcool a 70%;
- Algodão;
- Pincel marcador para identificação do cassete;
- Material para descarte.

O dispositivo de teste, também chamado de cassete, possui:

A – Janela de leitura: local onde será feita a interpretação do resultado do teste

B – Poço de amostra: local onde será adicionada a amostra;

C – Poço do tampão: local onde será adicionado o tampão de corrida.

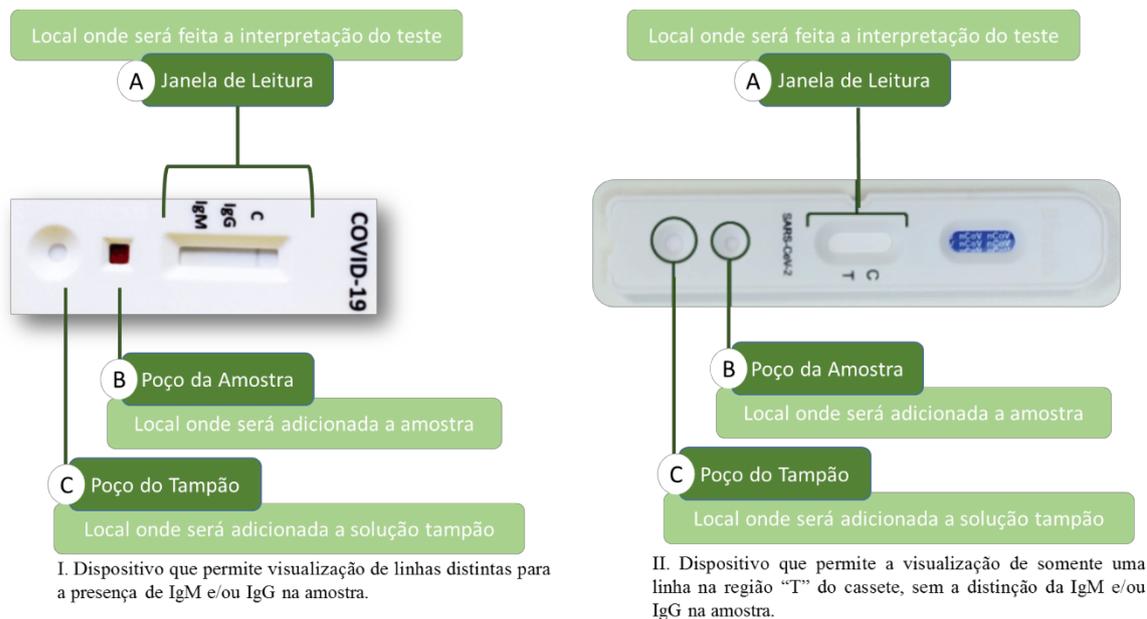


Fig. 4 – Dispositivo de teste/Cassete de teste. I – Dispositivo que permite visualização de linhas distintas para a presença de IgM e/ou IgG na amostra; II – Dispositivo que permite a visualização de somente uma linha na região “T” do cassete, sem a distinção de IgM e/ou IgG na amostra.

Na janela de leitura estão presentes:

- **A região C:** onde aparecerá a linha de controle da reação;
- **A região T:** onde poderá aparecer a linha de teste, que determina o resultado “Reagente” ou “Não Reagente”. No modelo I da Fig.4, a região T permite o aparecimento de linhas específicas a depender do tipo de anticorpo presente na amostra. No modelo II da Fig.4, a região T permite o aparecimento de uma linha única, que estará presente na presença de qualquer um dos dois anticorpos avaliados, IgM ou IgG, sem caracterização específica. Em qualquer um dos modelos, a presença de linha na região T identifica que o teste é “Reagente”.

6.3 Acondicionamento

Os componentes do kit são estáveis e são válidos até a data de validade descrita na embalagem externa, desde que armazenados na temperatura de 2 a 30 graus Celsius e mantidos nas embalagens originais.

Os testes devem ser armazenados em temperatura ambiente, evitando estarem expostos à luz solar direta, umidade e calor.