

Utilização de Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza



Utilização de Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza



**Organização
Mundial da Saúde**



**Para investigação sobre
doenças ligadas à pobreza**
UNICEF • PNUD • Banco Mundial • OMS

Catálogo-na-fonte: Biblioteca da OMS

Utilização de testes rápidos para diagnóstico da influenza.

1.Influenza humana - diagnóstico. 2.Vírus da influenza A - isolamento e purificação. 3.Vírus da influenza B - isolamento e purificação. 4.Técnicas de diagnóstico e procedimentos. 5.Testes diagnósticos de rotina - métodos. I.Programa Especial de Pesquisa e Capacitação em Doenças Tropicais (TDR), patrocinado pela UNICEF/PNUD/Banco Mundial/OMS. II.Organização Mundial da Saúde.

ISBN 978 92 4 859928 6

(Classificação NLM: WC 515)

© Organização Mundial da Saúde 2010

Todos os direitos reservados.

As publicações da Organização Mundial da Saúde podem ser pedidas a: Publicações da OMS, Organização Mundial da Saúde, 20 Avenue Appia, 1211 Genebra 27, Suíça (Tel: +41 22 791 3264; fax: +41 22 791 4857; e-mail: bookorder@who.int). Os pedidos de autorização para reproduzir ou traduzir as publicações da OMS – seja para venda ou para distribuição sem fins comerciais - devem ser endereçados a Publicações da OMS, no endereço anteriormente indicado (fax: : +41 22 791 4806; e-mail: permissions@who.int).

As denominações utilizadas nesta publicação e a apresentação do material nela contido não significam, por parte da Organização Mundial da Saúde, nenhum julgamento sobre o estatuto jurídico ou as autoridades de qualquer país, território, cidade ou zona, nem tampouco sobre a demarcação das suas fronteiras ou limites. As linhas ponteadas nos mapas representam de modo aproximativo fronteiras sobre as quais pode não existir ainda acordo total.

A menção de determinadas companhias ou do nome comercial de certos produtos não implica que a Organização Mundial da Saúde os aprove ou recomende, dando-lhes preferência a outros análogos não mencionados. Salvo erros ou omissões, uma letra maiúscula inicial indica que se trata dum produto de marca registado.

A OMS tomou todas as precauções razoáveis para verificar a informação contida nesta publicação. No entanto, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, nem expressa nem implícita. A responsabilidade pela interpretação e utilização deste material recai sobre o leitor. Em nenhum caso se poderá responsabilizar a OMS por qualquer prejuízo resultante da sua utilização.

Versão Portuguesa

Tradução do original: João Conceição e Silva

Adaptação gráfica: Inês de Vilhena

Contacto: joaotcsilva@gmail.com

Impresso em Portugal

Índice

Enquadramento	3
I. O que é a Influenza?	4
II. Como se diagnostica a Influenza?	7
III. Como e porque razões é monitorizada da actividade da influenza?	9
IV. Funções potenciais dos Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza (TRDIs)	10
V. Como funcionam os Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza?	12
VI. Com que eficácia os Testes Rápidos detectam a influenza?	16
VII. Optar pela utilização dos TRDIs e interpretar os resultados dos testes	18
VIII. O que considerar antes de optar pela aquisição de um TRDI	22
IX. Transporte e acondicionamento de TRDIs	25
X. Avaliação da qualidade do programa de testes	27
Caixa 1. Vantagens e inconvenientes dos TRDIs disponíveis no mercado	10
Caixa 2. Tópicos a recordar ao utilizar um TRDI	11
Caixa 3. Factores que influenciam a sensibilidade dos TRDIs	16
Caixa 4. Informação a exigir da parte dos fabricantes dos TRDIs	23
Quadro 1. Síntese da interpretação dos resultados dos TRDIs	18
Figura 1. Exames de diagnóstico disponíveis em diferentes ambientes laboratoriais	8
Figura 2. Modo de actuação para um TRDI convencional	12
Diagrama 1. Suspeita de surto de influenza em comunidades ou instituições fechadas	19
Diagrama 2. Transição de casos esporádicos para a transmissão generalizada do vírus pandémico de 2009 (H1N1) na comunidade	20
Diagrama 3. Actividade generalizada do vírus pandémico de 2009 (H1N1) na comunidade	21
Anexo 1. A sensibilidade e especificidade dos testes e a importância da prevalência na estimativa da capacidade de previsão dos testes de diagnóstico	28
Referências	29

Gostaríamos de agradecer as contribuições incomensuráveis de numerosos elementos da OMS e do TDR, incluindo May Chu, Jane Cunningham, Matthew Lim, Nahoko Shindo, Wenqing Zhang, e o contributo técnico de revisores externos, incluindo Fred Hayden, Lance Jennings e Tim Uyeki.

Para quaisquer esclarecimentos ou receber cópias da publicação, por favor contacte:

Dr. Jane Cunningham, OMS / TDR
E-mail: cunninghamj@who.int



A vertical strip on the left side of the page shows a microscopic view of virus particles, likely influenza A (H1N1), appearing as textured, spherical structures against a light blue background.

Enquadramento

A influenza, tanto sazonal como pandémica, implica riscos permanentes para a saúde pública humana global. A emergência do novo vírus da influenza A (H1N1) de 2009 na população humana resultou numa pandemia de influenza de escala global. Os testes de diagnóstico de influenza, que assistem no tratamento de casos e no controlo de surtos e permitem a monitorização do alcance da doença e da evolução do vírus, são críticos para o tratamento de pacientes e para os esforços de saúde pública. Como resultado, é imperativo que as estratégias de testes laboratoriais sejam desenvolvidas e optimizadas em cada país. Ainda que estejam disponíveis em laboratórios especializados, a capacidade dos testes especializados pode ser ultrapassada em caso de pandemia. Estão disponíveis Testes de Diagnóstico Médico Junto do Paciente (point-of-care tests – POCT) e Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza (TRDIs) e podem ser empregues em contextos remotos e em gabinetes médicos ou clínicos sem serviços laboratoriais. Não exigem equipamento laboratorial e podem ser realizados e interpretados por pessoal de saúde em 5 a 15 minutos.

O presente guia fornece informação geral sobre os TRDIs e suas possíveis aplicações de acordo com a disponibilidade dos serviços laboratoriais e epidemiológicos locais afectos à influenza. Em particular, enfatiza as limitações desses testes. O objectivo do presente documento consiste em garantir a adequação do uso e da interpretação dos resultados dos TRDIs, combinados com a orientação sobre o planeamento de qualidade anterior à implementação dos testes, de modo a que os esforços relativos ao tratamento de casos particulares e ao controlo da doença sejam optimizados.

I. O que é a influenza?

A influenza é uma doença aguda respiratória causada pela infecção pelos vírus influenza de tipo A e B. Todos os vírus influenza são sub-agrupados com base nas suas glicoproteínas de superfície hemaglutinina (H) e neuraminidase (N), das quais se conhecem 16 tipos de H e 9 tipos de N. Os subtipos correntes de vírus influenza A que mais frequentemente circulam por entre os humanos são o A (H1N1) e o A (H3N2). As aves aquáticas são os principais hospedeiros para os vírus influenza A, embora estes também circulem noutros animais, como os porcos, cavalos e focas. Os humanos são os principais hospedeiros para os vírus influenza B.

Nos humanos, tanto os vírus influenza A como B originam epidemias sazonais com picos de Inverno, nas regiões temperadas, e com circulação durante todo o ano nos trópicos, onde mantêm actividade tanto na estação chuvosa como na seca. Ambos os vírus evoluem continuamente através da acumulação de mutações que conduzem à mutação antigénica minor das glicoproteínas H e N. Os vírus influenza A também podem evoluir através de mecanismos adicionais que permitem o aparecimento de novas estirpes de vírus influenza A, que podem gerar uma pandemia de influenza rara, no caso de o novo vírus se propagar de modo continuado por populações fragilizadas.

O espectro de infecção do vírus influenza é vasto, abarcando desde as doenças ligeiras do tracto respiratório superior, não febris, passando por doenças febris do tipo influenza (DTIs) / doenças respiratórias agudas, até a complicações graves ou mesmo fatais. A maior incidência de doença ocorre sobretudo por entre as crianças, enquanto que a maior incidência envolvendo hospitalização e morte ocorre por entre os indivíduos que padecem de condições médicas, recém-nascidos, crianças jovens e idosos.



A influenza comum sazonal está associada a um período de incubação de 1 a 4 dias, seguido da manifestação aguda de sinais e sintomas que incluem febre superior a 38° C, mialgia, dor de cabeça, inflamação de garganta e tosse persistente. As crianças podem apresentar sintomas gastrointestinais, enquanto que, nos idosos, a influenza pode apresentar-se como letargia sem temperaturas elevadas. Nos adultos, a reprodução viral e provável comunicação são maiores nos primeiros 3 a 5 dias de doença. Nas crianças jovens e imunocomprometidas, esse período poderá ser superior (por exemplo, 7 a 10 dias no primeiro caso e semanas a meses no segundo).



A emergência e rápida propagação à escala mundial da nova estirpe de vírus influenza A (H1N1) na Primavera de 2009 resultou na primeira pandemia de influenza desde 1968. Enquanto que a maior parte dos problemas de saúde causados pela infecção pandémica de 2009 pelo vírus influenza A (H1N1) se tenham limitado a complicações ligeiras a moderadas simples, registaram-se complicações graves, incluindo resultados mortais, sendo que as taxas de incidência foram maiores nas crianças e jovens adultos. Os factores de risco para doença grave derivada de infecção pelo vírus de 2009 (H1N1) registados até à data são considerados semelhantes aos factores de risco identificados por complicações por influenza sazonal. Os indivíduos em maior risco incluem: recém-nascidos e crianças jovens, em particular aquelas com menos de 2 anos, e adultos com mais de 65 anos; grávidas e pessoas de qualquer idade com condições crónicas do foro pulmonar, cardíaco, hepático ou metabólico.

Todos os anos são publicadas recomendações detalhadas para a prevenção e controlo das epidemias anuais de influenza pelas agências nacionais de saúde e a Organização Mundial da Saúde (OMS). Para além disso, a OMS e os respectivos países possuem planos para situações de pandemia. A imunização e os medicamentos antivirais desempenham um papel vital no processo. Os medicamentos antivirais estão disponíveis para tratamento. Pode encontrar-se mais informação sobre a vacinação e o uso de antivirais contra a influenza sazonal e pandémica em *WHO recommendations on pandemic (H1N1) 2009 vaccines*¹ e em *WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1)*.



¹ http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_vaccine_20090713/en/index

II. Como se diagnostica a Influenza?

A maioria dos casos humanos de influenza são diagnosticados em ambiente clínico. Porém, durante períodos de actividade fraca de influenza e fora de cenários de surto, a circulação de outros vírus de meio respiratório que podem apresentar-se como DTIs torna difícil o diagnóstico clínico. A doença por influenza pode ser clinicamente indistinguível da infecção por rinovírus, vírus sincicial respiratório, parainfluenza, adenovírus e outros. Por conseguinte, demonstram-se necessárias a colheita adequada de amostras respiratórias e a realização de um teste de diagnóstico laboratorial para a obtenção de um diagnóstico definitivo.

A colheita, o acondicionamento e o transporte adequados dos espécimes respiratórios são essenciais como primeiro passo para a detecção de infecções de vírus influenza em laboratório. A confirmação laboratorial de vírus influenza com origem em secreções orofaríngeas, nasais ou nasofaríngeas ou aspirações ou exsudado nasal é habitualmente realizada através de detecção antigénica directa, isolamento viral ou detecção de ácido ribonucleico (ARN) específico da influenza, por meio da Reacção da transcriptase reversa, seguida de reacção em cadeia da polimerase (RT-PCR). Para uma síntese da metodologia para uma colheita, acondicionamento e transporte adequados de espécimes clínicos e para metodologias laboratoriais para diagnóstico de influenza, por favor ver os seguintes documentos:

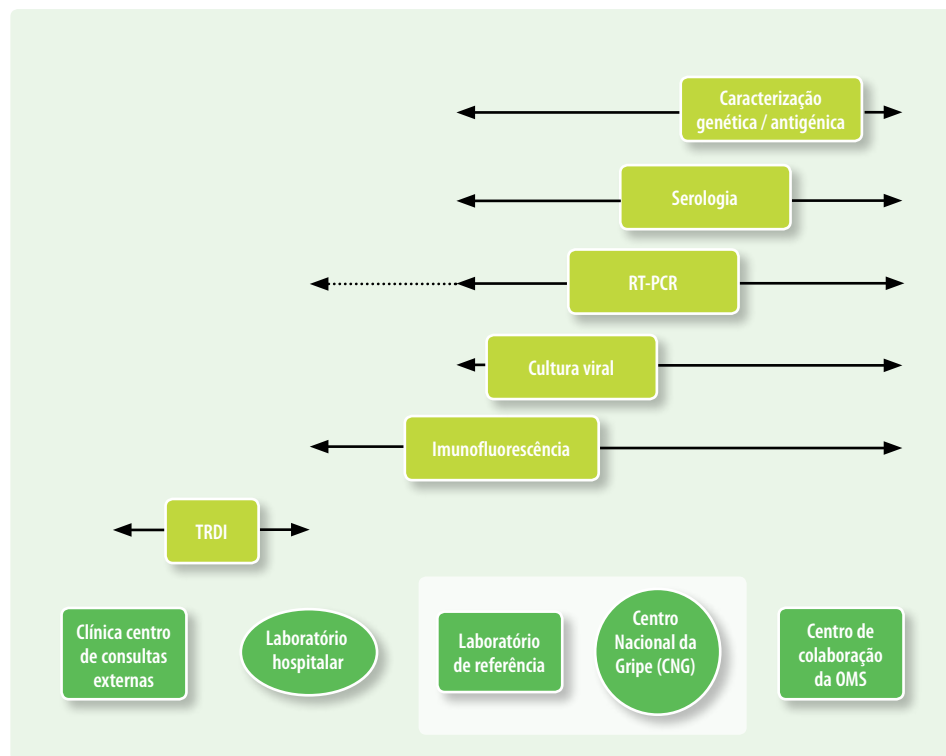
1. *Instructions for storage and transport of suspected or confirmed human and animal specimens and virus isolates of pandemic (H1N1) 2009.*²
2. *WHO Information for Laboratory Diagnosis of New Influenza A (H1N1) Virus.*³

2 http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/storage_transport/en/index.html

3 http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/diagnostic_recommendations/en/index.html



Figura 1: Exames de diagnóstico disponíveis em diferentes ambientes laboratoriais



Os métodos de diagnóstico existentes têm diferenças importantes no que concerne ao seu desempenho, facilidade e duração de execução, custos com equipamentos e reagentes e disponibilidade. Com excepção da detecção antigénica directa através de testes rápidos, que pode ser realizada no próprio posto de prestação de cuidados de saúde e em localizações remotas, o diagnóstico requer uma capacidade laboratorial sofisticada e a existência de pessoal de laboratório altamente especializado (Figura 1).

III. Como e porque razões é monitorizada da actividade da influenza?

A vigilância e monitorização da actividade de influenza são cruciais para a gestão de pandemias nos níveis global e nacional. Em diferentes etapas de uma pandemia, a monitorização pode ser conduzida de forma diferente, dependendo do país em causa e da sua capacidade laboratorial.⁴

Para facilitar os esforços de vigilância e monitorização da influenza, a OMS tem coordenado uma Rede Global para a Vigilância da Influenza (RGVI / GISN), essencialmente composta por 5 Centros de Colaboração e mais de 130 Centros Nacionais da Gripe (CNG) espalhados um pouco por todo o Mundo. Como resultado, na maior parte dos países existe actualmente um mecanismo destinado ao transporte de amostras clínicas para a cadeia de laboratórios existente, de modo a monitorizar a evolução geográfica e permitir a avaliação do vírus sobre as alterações antigénicas, a sensibilidade antiviral e outras propriedades virais. Por seu turno, este processo influencia a orientação do tratamento clínico da influenza e dos esforços dos serviços de saúde pública, incluindo a identificação de vírus elegíveis para a selecção de vacinas.



⁴ Human infection with pandemic (H1N1) 2009 virus: updated interim WHO guidance on global surveillance 10 July 2009, http://www.who.int/csr/disease/swineflu/WHO_case_definition_swine_flu_2009_04_29.pdf

IV. Funções potenciais dos Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza (TRDIs)

Tratamento de pacientes individuais

Os Testes Rápidos para Diagnóstico de Influenza (TRDIs) podem auxiliar no diagnóstico e tratamento de pacientes que apresentem DTIs, especialmente se realizados nos primeiros 4 dias da manifestação dos sintomas. Contudo, têm limitações graves, uma vez que os TRDIs disponíveis no mercado não permitem a confirmação específica do vírus pandémico de influenza A (H1N1) e que um teste positivo não permite a distinção entre o vírus pandémico de 2009 (H1N1) ou excluir a infecção por vírus sazonais influenza A. Do mesmo modo, consequência da baixa sensibilidade dos testes, um resultado negativo não é capaz de excluir a infecção por vírus influenza pandémica ou sazonal. Para este efeito, são necessárias informações adicionais para auxiliar a interpretação dos resultados se estes se destinarem à documentação de decisões sobre o tratamento de pacientes, incluindo: informação relativa à monitorização sobre a circulação de vírus influenza; sintomas e conclusões clínicas; histórico de viagens e / ou exposição a casos prováveis ou confirmados de influenza. Em geral, a utilização de TRDIs em pacientes hospitalizados não deve ser encorajada se estiverem disponíveis testes por RT-PCR ou testes de imunofluorescência. Para mais informação sobre este tópico, consultar a secção 'Com que eficácia os Testes Rápidos detectam a influenza?'.

Controlo de surtos em comunidades institucionais e semi-encerradas

Os TRDIs podem contribuir para uma identificação rápida da influenza A em instituições, escolas e / ou comunidades com número crescente de registos de DTI, podendo facilitar a implementação atempada de intervenções de controlo de surtos em instituições e informar a coordenação de saúde pública. As comunidades semi-encerradas também podem beneficiar dos testes, incluindo a realização de testes em passageiros de embarcações de cruzeiros, nas quais podem ocorrer surtos em qualquer altura do ano.

Caixa 1

Vantagens e inconvenientes dos TRDIs disponíveis no mercado

Vantagens:

- Muitos dos testes fazem a distinção entre a influenza A e B ;
- A probabilidade de produzirem falsos resultados positivos é reduzida.

Desvantagens:

- Não permitem eliminar a possibilidade de infecção por influenza;
- A maioria não fornece informação sobre o subtipo;
- Não fornecem informação sobre a susceptibilidade aos medicamentos antivirais.

Apesar da reduzida sensibilidade relativamente a outros testes, tais como culturas virais e RT-PCR, a detecção antigénica rápida numa porção de casos de DTI em situações de surto permite considerar que a influenza esteja envolvida. Sempre que possível, deverão confirmar-se pelo menos alguns espécimes positivos, através de um dos métodos mais sensíveis e específicos.

Viajantes

Os viajantes internacionais suspeitos ser portadores de influenza deverão ser tratados segundo as directrizes nacionais relativas ao tratamento clínico de infecções respiratórias agudas.

Vigilância

Como acima se enfatizou, a confirmação de influenza na comunidade pode auxiliar à interpretação dos resultados de TRDIs e melhorar a precisão dos diagnósticos clínicos. Os TRDIs têm sido empregues na identificação de focos de actividade de influenza e na orientação da colheita de amostras para cultura e caracterização viral, mas **não** deverão ser utilizados isolados para efeitos de vigilância. Contudo, os resultados de TRDIs podem ser úteis para a detecção de casos positivos durante a introdução e transmissão do vírus pandémico de 2009 (H1N1) em determinada comunidade ou região e podem ser utilizados para a hierarquização, por prioridade, de espécimes de pacientes para colheita e transporte para laboratórios que realizem testes confirmatórios e tenham capacidade para caracterizar o vírus e monitorizar a evolução viral através de análise antigénica.

Em todos os casos, a precisão de um TRDI está dependente da qualidade do espécime e do cuidado e experiência com que o teste é preparado e interpretado. Devem ser considerados vários tópicos durante a manipulação de um TRDI (ver Caixa 2).

Caixa 2

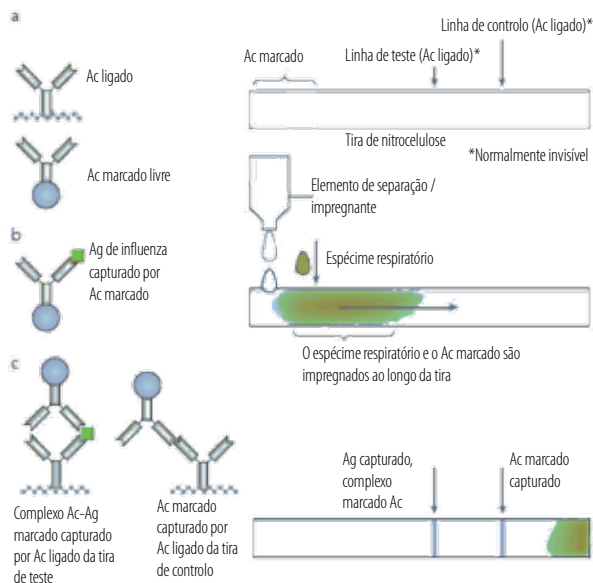
Tópicos a recordar ao utilizar um TRDI:

- A formação para o uso e interpretação de resultados na utilização de um TRDI é essencial;
- É imperativa a existência de um plano de orientação para resultados, ou seja, a definição das acções a tomar em caso de resultado positivo, negativo ou indeterminado;
- As instruções do produto devem ser rigorosamente seguidas, incluindo os tempos de leitura especificados;
- Devem ser seguidas as precauções relacionadas com a biossegurança;
- No caso de a embalagem estar corrompida ou seriamente danificada, o TRDI deve ser eliminado;
- A embalagem do teste deve ser aberta apenas quando tiver alcançado temperatura ambiente e o TRDI deve ser utilizado imediatamente após a sua abertura;
- Um TRDI não pode ser reutilizado.

V. Como funcionam os Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza?

Os testes rápidos para diagnóstico da influenza (TRDIs), de outra forma conhecidos como Testes Junto do Paciente (POCTs) ou “testes de tira”, detectam antígenos virais (proteínas) específicos da influenza. O TRDI assinala a presença de antígenos virais por meio de uma alteração cromática ou outro meio óptico (Figura 2). O alvo antigénico mais frequente nos testes disponíveis no mercado para os testes aplicáveis à influenza em geral ⁵, influenza A, influenza B ou a combinação de influenza A e B é a nucleoproteína (NP). Estes testes não fazem distinção entre os subtipos A ou B da influenza.

Figura 2: Modo de actuação para um TRDI convencional



Modo de actuação de um TRDI convencional:

- (a) O anticorpo marcado por meio de tinta (Ac), específico para a identificação de antígeno (Ag), está presente na extremidade inferior da tira de nitrocelulose ou em recipiente fornecido com a tira. Um anticorpo, igualmente específico para a identificação do antígeno, é ligado à tira numa linha fina (de teste); e um anticorpo ou um antígeno específicos para o anticorpo marcado é ligado à linha de controlo;
- (b) O espécime respiratório e o elemento de separação, que foram colocados na tira ou no recipiente, são misturados com o anticorpo marcado e arrastados pela tira ao longo das linhas de anticorpo ligado;
- (c) Caso o antígeno esteja presente, uma porção do anticorpo será capturada na linha de teste. Outros anticorpos marcados são capturados na linha de controlo.

⁵ Testes que detectam a influenza mas não fazem distinção entre tipo A ou B.

Formatos

Os TRDIs apresentam-se habitualmente em três formatos distintos – testes de tira, cassete ou cartão. Os testes de tira são imersos directamente em recipientes ou tubos contendo o espécime respiratório e o agente de extracção do kit de teste. Como alternativa, a tira de nitrocelulose pode ser colocada num receptáculo de plástico (cassete) ou fixada a um papel espesso (cartão).

Colheita de espécimes

Os testes admitem um ou mais tipos de espécimes respiratórios, tais como aspirações nasais, aspirações ou esfregaços nasofaríngeos, lavagens ou esfregaços nasais e esfregaços orofaríngeos. Para pacientes gravemente doentes, também podem ser empregues aspirações endotraqueais e lavagem brocoalveolar (LBA) nalguns kits de teste, embora nem todos os kits tenham sido avaliados para todos os tipos de amostra. Em alguns casos, os esfregaços podem estar incluídos nos pacotes de teste, enquanto que noutros podem ser comprados separadamente. A literatura incluída nos pacotes identifica habitualmente os tipos de amostra compatíveis, mas em geral os esfregaços compostos por alginato de cálcio não aceites. Caso exista necessidade de transportar os espécimes para as instalações de teste e a manutenção da viabilidade do vírus for importante (para cultura), deverão ser colocados em meio de transporte de vírus (MTV) estéril compatível com o resto do kit e transportado a 4°C num máximo de 24 horas. Normalmente, os MTVs são enumerados pelo fabricante nas instruções incluídas na embalagem.

Para otimizar o desempenho do TRDI, a colheita de espécimes deve ser realizada por um profissional de saúde devidamente instruído e durante o período em que é expectável que o paciente reproduza o vírus até atingir níveis suficientes para a detecção de antigénio. A informação orientadora para a colheita de espécimes está disponível nas instruções



para acondicionamento e transporte de espécimes humanos e animais suspeitos ou confirmados e isolamentos de vírus pandémico (H1N1) 2009.⁶

A magnitude e duração da reprodução do vírus pandémico (H1N1) 2009 são conhecidas de forma incompleta e são variáveis com a gravidade da doença. A abordagem corrente consiste em basear as estimativas em infecções sazonais de vírus de influenza, até que esteja disponível informação específica sobre o subtipo A H1N1.

Idealmente, os espécimes respiratórios devem ser recolhidos tão cedo quanto possível no processo de desenvolvimento da doença. A reprodução do vírus abranda a partir do terceiro dia de manifestação

⁶ http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/storage_transport/en/index.htm



de sintomas e, nos adultos, o vírus é frequentemente indetectável após cinco dias. Porém, este período é extensível para as crianças, os imunodeficientes ou imunosuprimidos e, aparentemente, nos pacientes com doenças graves do tracto respiratório inferior por infecção pandémica H1N1.

Complexidade

Os TRDs para influenza disponíveis no mercado podem variar quanto aos requisitos para tipo de espécime, contextos aprovados em que podem ser usados, número de etapas de processamento, necessidade de precisão cronométrica e interpretação de resultados, que influenciarão a extensão da formação e supervisão necessária. Para este fim, a avaliação da facilidade de utilização representa uma consideração importante a par do desempenho do teste.

Rapidez

O tempo necessário para obtenção de resultados é variável, mas a maioria dos TRDs para influenza A / B pode ser realizada em 5 a 15 minutos. Em alguns casos, os fabricantes especificam o tempo máximo para leitura e / ou fornecem uma solução fixante que pode ser adicionada para permitir uma leitura posterior precisa.

Requisitos de equipamento e formação

O conteúdo dos kits convencionais não inclui necessariamente todos os elementos obrigatórios para a realização do teste, sendo que tal deve ser verificado antes da compra dos TRDs. Pelo menos um TRDI utiliza um instrumento de leitura.

A formação para a realização dos TRDs é altamente recomendada para todos os testes e deverá ser adaptada a cada um, dada a variabilidade da sua complexidade e do tipo de espécime aceite.



VI. Com que eficácia os Testes Rápidos detectam a influenza?

Os TRDIs disponíveis no mercado reagem com a nucleoproteína do vírus pandémico (H1N1) (Hurt et al., 2009; Chan et al., 2009); porém, a informação disponível sobre a sua sensibilidade⁷, quando comparada com os RT-PCR em tempo real, é muito limitada. Com base em resultados preliminares utilizando espécimes clínicos e comparados com os RT-PCR em tempo real, a sensibilidade varia entre 10 e 69% em relatórios seleccionados comparados com RT-PCR ou culturas virais (Uyeki, 2003; Hurt et al., 2007; Uyeki, 2009; Rouleau, 2009). Em todos os casos, é importante considerar que a sensibilidade dos testes pode ser afectada por diversos factores (ver Caixa 3). Globalmente, a informação disponível indica que os TRDIs podem não abranger numerosas infecções pelo vírus pandémico (H1N1) de 2009 (os resultados negativos falsos podem ser comuns).

A informação limitada existente sugere que a especificidade dos TRDIs⁸ para o vírus pandémico (H1N1) de 2009 é elevada, por comparação com as culturas virais ou RT-PCR (93,3% comparada com a cultura [Ginocchio et al., 2009] e 100% comparada com RT-PCR [Vasoo et al., s.d.]). Para influenza sazonal, a especificidade varia entre 90 e 100% numa selecção de relatórios publicados. Assim, embora os resultados positivos falsos possam ocorrer, são pouco frequentes quando os vírus de influenza circulam localmente.

Caixa 3

Factores que influenciam a sensibilidade dos TRDIs:

- Tipo e subtipo da influenza (variação na estrutura e expressão do antigénio);
- Número de vírus presentes no espécime. Este depende do momento da colheita no processo clínico, da idade do paciente e do estado imunitário;
- Estado do TRDI;
- Qualidade e origem da amostra: esfregaço nasofaríngeo vs nasal vs orofaríngeo;
- Adequação da técnica de realização do teste e interpretação dos resultados (pelo leitor);
- Uso do meio de transporte: possível efeito de diluição vs crescimento / reprodução viral.

⁷ A proporção de indivíduos com H1N1 pandémico que registam um resultado positivo no teste.

⁸ A proporção de indivíduos sem influenza H1N1 que registam um resultado negativo no teste.

Para interpretar correctamente os resultados de TRDIs e determinar a sua adequação ao uso, importa considerar também a prevalência das estirpes do vírus de influenza em circulação na comunidade, uma vez que tal afecta o valor previsto positivo⁹ e negativo (VPP e VPN) dos testes. Se a prevalência for desconhecida, os resultados dos TRDIs tornam-se difíceis de interpretar e são de utilidade limitada para a documentação de decisões relacionadas com o tratamento de casos.

O Anexo 1 apresenta um exemplo de como esses diversos parâmetros interagem. Em geral, aplica-se o seguinte:

- Durante um pico de actividade da influenza: um resultado positivo tem a maior probabilidade de indicar a presença de infecção e a menor probabilidade de que um resultado negativo indique a ausência de infecção;
- Durante uma baixa na actividade da influenza: um resultado positivo tem a menor probabilidade de indicar a presença de infecção (os falsos positivos são mais frequentes) e a maior probabilidade de um resultado negativo ser verdadeiro / correcto;
- Actividade de influenza desconhecida: a probabilidade dos resultados indicarem correctamente a presença ou ausência de infecção é desconhecida. Os TRDIs não podem ser interpretados de forma fiável.

⁹ O valor previsto positivo (VPP) consiste na probabilidade de um resultado positivo indicar correctamente a presença de infecção. O valor previsto negativo (RPN) consiste na probabilidade de um resultado negativo indicar correctamente a ausência de infecção.



VII. Optar pela utilização dos TRDIs e interpretar os resultados dos testes

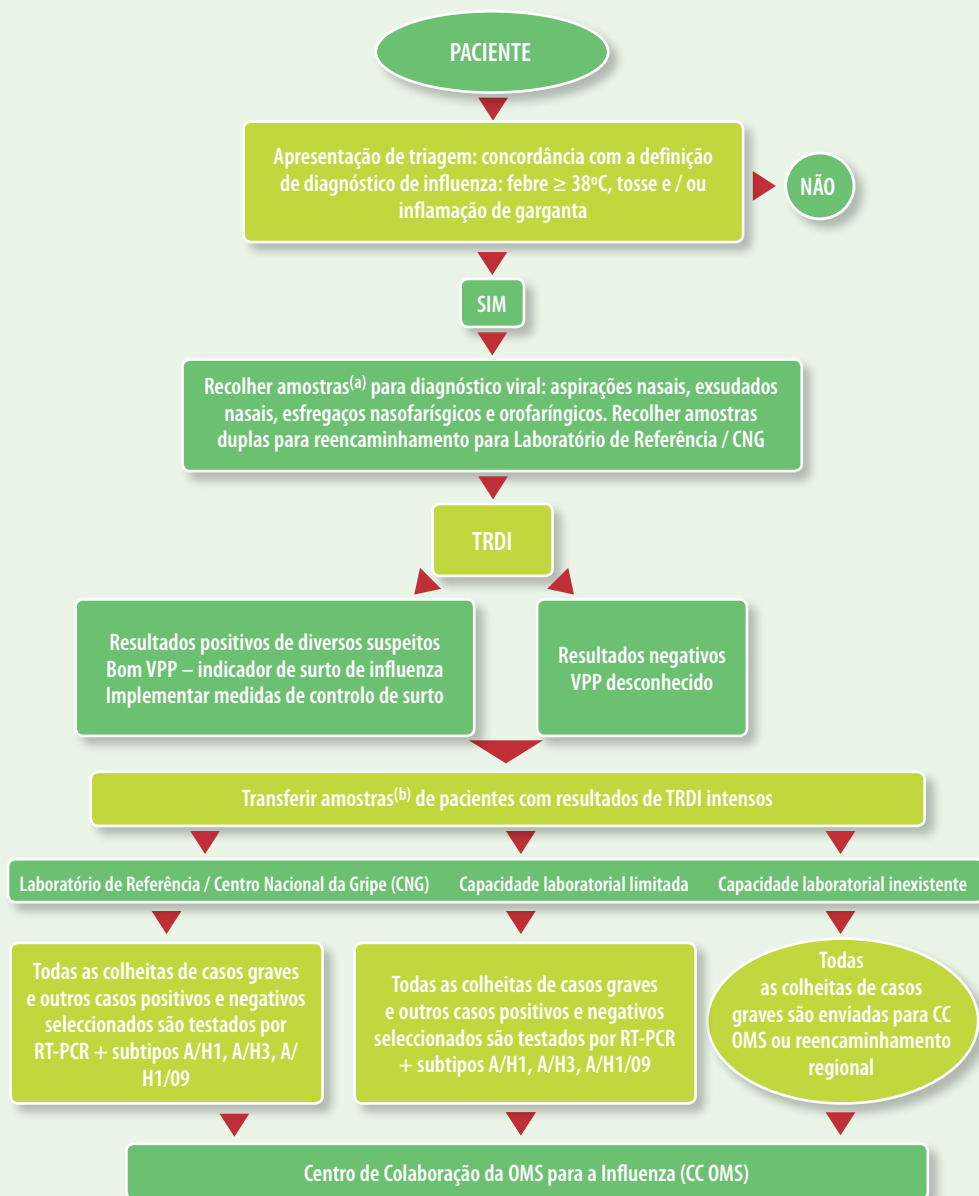
Apesar das provas existentes sobre as limitações do desempenho dos testes, os Testes Rápidos para Diagnóstico da Influenza (TRDIs), se correctamente interpretados, têm um papel a desempenhar na orientação do tratamento dos pacientes, nas decisões relacionadas com a saúde pública e na assistência aos esforços de vigilância da influenza. O Quadro 1 sintetiza a interpretação dos resultados de TRDIs. Nos diagramas seguintes (1 a 3), o teste e a interpretação dos TRDIs são apresentados como parte dos algoritmos globais para teste de diagnóstico de influenza em contextos com actividade de influenza e práticas de vigilância variáveis.

Quadro 1: Síntese da interpretação dos resultados dos TRDIs

Resultado do TRDI	Interpretação possível	Maior probabilidade se:
Positivo para Gripe A	Infecção por vírus pandémico (H1N1) 2009	Transmissão generalizada do vírus pandémico (H1N1) 2009 pela comunidade – pico do surto
	Infecção por vírus sazonal de influenza A	Transmissão generalizada de influenza A sazonal pela comunidade
	Falso resultado positivo	Quando a influenza é pouco comum na comunidade (no início e no final de um surto)
Positivo para Gripe B	Infecção por vírus sazonal de influenza B	Transmissão generalizada de influenza B sazonal pela comunidade
	Falso resultado positivo	Quando a influenza é pouco comum na comunidade (no início e no final de um surto)
Resultados Negativos ^(a)	Negativo verdadeiro	Quando a influenza é pouco comum na comunidade (no início e no final de um surto)
	Negativo verdadeiro	Quando a influenza é comum na comunidade – no pico de um surto
		O período de reprodução viral terminou e / ou o antigénio é insuficiente para registar um resultado positivo
		O TRDI está danificado, reduzindo a sua sensibilidade

^(a) Todos os resultados negativos requerem investigação subsequente adequada.

Diagrama 1: Suspeita de surto de influenza em comunidades ou instituições fechadas



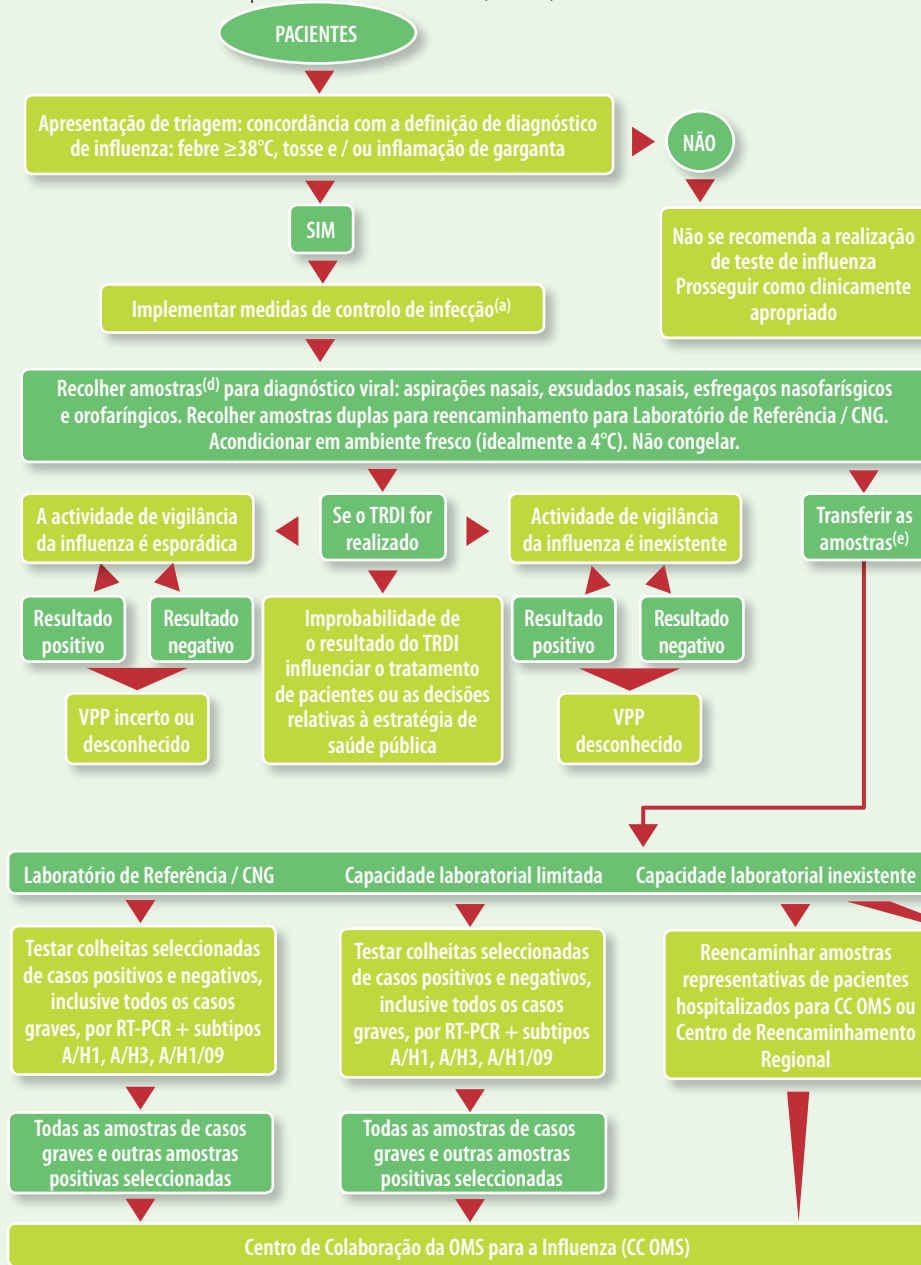
NOTAS:

(a) Instruções para acondicionamento e transporte de espécimes humanos e animais confirmados ou suspeitos e isolamentos de vírus pandémico (H1N1) 2009. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/storage_transport/en/index.html

Alguns TRDI's admitem uma contagem inferior de espécimes do tracto respiratório; consultar a literatura inclusa na embalagem ou a informação do produto.

(b) Em cada país, pode existir jurisdição à escala nacional, regional e local que defina os requisitos para a vigilância da influenza.

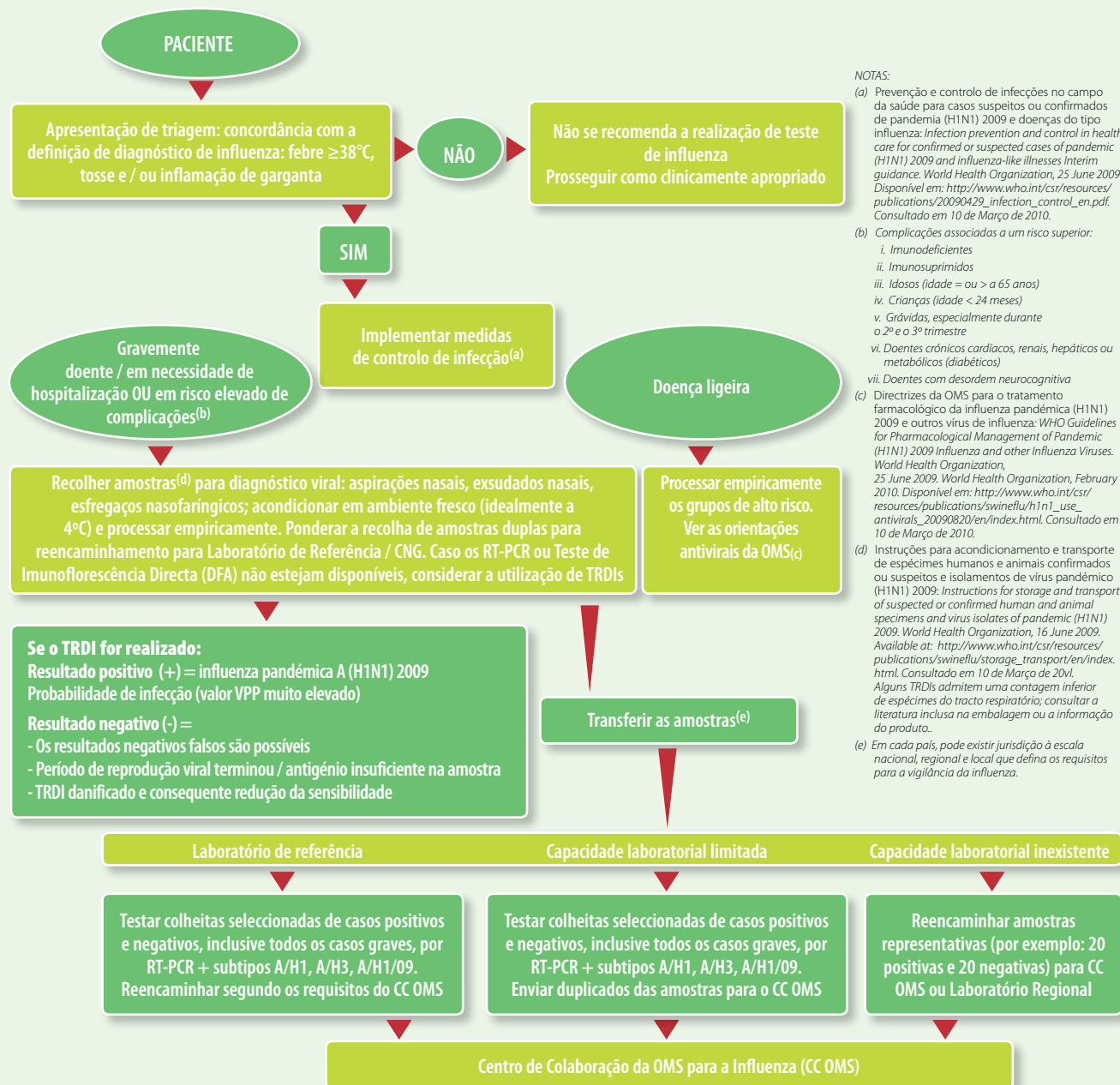
Diagrama 2: Transição de casos esporádicos para a transmissão generalizada do vírus pandémico de 2009 (H1N1) na comunidade



NOTAS:

- (a) Prevenção e controlo de infecções no campo da saúde para casos suspeitos ou confirmados de pandemia (H1N1) 2009 e doenças do tipo influenza: *Infection prevention and control in health care for confirmed or suspected cases of pandemic (H1N1) 2009 and influenza-like illnesses Interim guidance*. World Health Organization, 25 June 2009. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/20090429_infection_control_en.pdf. Consultado em 10 de Março de 2010.
- (b) Complicações associadas a um risco superior:
 - i. Imunodeficientes
 - ii. Imunosuprimidos
 - iii. Idosos (idade = ou > a 65 anos)
 - iv. Crianças (idade < 24 meses)
 - v. Grávidas, especialmente durante o 2º e o 3º trimestre
 - vi. Doentes crónicos cardíacos, renais, hepáticos ou metabólicos (diabéticos)
 - vii. Doentes com disordem neurocognitiva
- (c) Directrizes da OMS para o tratamento farmacológico da influenza pandémica (H1N1) 2009 e outros vírus de influenza: *WHO Guidelines for Pharmacological Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other Influenza Viruses*. World Health Organization, 25 June 2009. World Health Organization, February 2010. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_use_antivirals_20090820/en/index.html. Consultado em 10 de Março de 2010.
- (d) Instruções para acondicionamento e transporte de espécimes humanos e animais confirmados ou suspeitos e isolamentos de vírus pandémico (H1N1) 2009: *Instructions for storage and transport of suspected or confirmed human and animal specimens and virus isolates of pandemic (H1N1) 2009*. World Health Organization, 16 June 2009. Available at: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/storage_transport/en/index.html. Consultado em 10 de Março de 2010. Alguns TRDIs admitem uma contagem inferior de espécimes do tracto respiratório; consultar a literatura incluída na embalagem ou a informação do produto.
- (e) Em cada país, pode existir jurisdição à escala nacional, regional e local que defina os requisitos para a vigilância da influenza.

Diagrama 3: Actividade generalizada do vírus pandémico de 2009 (H1N1) na comunidade



NOTAS:

- (a) Prevenção e controlo de infecções no campo da saúde para casos suspeitos ou confirmados de pandemia (H1N1) 2009 e doenças do tipo influenza: *Infection prevention and control in health care for confirmed or suspected cases of pandemic (H1N1) 2009 and influenza-like illnesses Interim guidance*. World Health Organization, 25 June 2009. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/20090429_infection_control_en.pdf. Consultado em 10 de Março de 2010.
- (b) Complicações associadas a um risco superior:
 - i. Imunodeficientes
 - ii. Imunosuprimidos
 - iii. Idosos (idade = ou > a 65 anos)
 - iv. Crianças (idade < 24 meses)
 - v. Grávidas, especialmente durante o 2º e o 3º trimestre
 - vi. Doentes crónicos cardíacos, renais, hepáticos ou metabólicos (diabéticos)
 - vii. Doentes com desordem neurocognitiva
- (c) Directrizes da OMS para o tratamento farmacológico da influenza pandémica (H1N1) 2009 e outros vírus de influenza: *WHO Guidelines for Pharmaceutical Management of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza and other Influenza Viruses*. World Health Organization, 25 June 2009. World Health Organization, February 2010. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_use_antivirals_20090820/en/index.html. Consultado em 10 de Março de 2010.
- (d) Instruções para acondicionamento e transporte de espécimes humanos e animais confirmados ou suspeitos e isolamentos de vírus pandémico (H1N1) 2009: *Instructions for storage and transport of suspected or confirmed human and animal specimens and virus isolates of pandemic (H1N1) 2009*. World Health Organization, 16 June 2009. Available at: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/storage_transport/en/index.html. Consultado em 10 de Março de 2010. Alguns TRDIs admitem uma contagem inferior de espécimes do tracto respiratório; consultar a literatura inclusa na embalagem ou a informação do produto.
- (e) Em cada país, pode existir jurisdição à escala nacional, regional e local que defina os requisitos para a vigilância da influenza.

VIII. O que considerar antes de optar pela aquisição de um TRDI

Actualmente, existem no mercado numerosos TRDIs por entre os quais escolher. A selecção de TRDI implica a consideração de diversas características e requisitos dos testes, inclusive o preço. Cada uma é ponderada em seguida.

Vírus de influenza a que se destina: Os TRD para influenza: detectam apenas influenza A; detectam influenza A e B; ou detectam e distinguem entre influenza A e B.

Desempenho do teste: As sensibilidades relativas dos TRDIs disponíveis no mercado são de difícil avaliação a partir da literatura publicada, existindo poucos estudos comparativos sobre a sua sensibilidade clínica e especificidade para a influenza pandémica (H1N1) 2009. Em todos os casos, o desempenho dos testes é influenciado pela idade do paciente, duração da doença antes da colheita do espécime, tipo de espécime, condições de transporte e acondicionamento e, potencialmente, o tipo de vírus de influenza (embora os antigénios da nucleoproteína sejam altamente conserváveis em vírus de influenza A).

No geral, a sensibilidade do teste será desadequada para eliminar a possibilidade de infecção por influenza nos indivíduos com resultado negativo, mas os falsos resultados positivos tendem a ser relativamente raros quando a doença está generalizada e, por conseguinte, os resultados positivos podem orientar o tratamento.



Facilidade de utilização: A quantidade de formação e supervisão necessária é um factor importante e será influenciada pelo formato do teste (teste de tira, cassete, cartão), número de etapas de processamento, necessidade de precisão e / ou medições cronométricas e / ou equipamento adicional, facilidade de interpretação, duração da obtenção de resultados e riscos relacionados com a biossegurança.

Condições de utilização: A maior parte dos TRDIs pode ser acondicionada entre 15 e 30°C. Caso a temperatura seja superior a 30°C, pode ser necessário assegurar um ciclo de frio permanente para transporte e acondicionamento, assim como conduzir regularmente verificações de qualidade para garantir a validade dos resultados dos testes.

Vida em armazém: A maioria dos TRDs para influenza têm uma vida em armazém de entre 12 e 24 meses após a data de fabrico. Uma vida em armazém de 18 meses é geralmente recomendada se os testes se destinarem a envio para localidades pobres e remotas. Uma vida útil superior reduz a pressão sobre a cadeia de fornecimento e previne o desperdício de testes expirados.

Custos: O custo de um TRDI é variável com o teste em causa e o volume de unidades a adquirir. Os custos relacionados com o transporte, taxas de importação, acondicionamento, formação (e supervisão) do utilizador final e actividades de avaliação de controlo de qualidade, necessários para garantir a qualidade de implementação dos TRDIs, também devem ser considerados.

Caixa 4

Informação a exigir da parte dos fabricantes dos TRDIs:

1. Informação sobre a estabilidade em tempo real do produto e informação acelerada sobre o lote adquirido;
2. Prova de boas práticas no fabrico (por exemplo: certificação GMP ou ISO; a norma ISO 13485:2003 é específica para equipamento médico);
3. Prova de uso bem sucedido ou de informação de campo positiva sobre o produto;
4. Viabilidade do fabricante a longo prazo (para assegurar a continuidade do abastecimento);
5. Disponibilidade de apoio ao produto;
6. Fornecimento de amostras do produto para examinação e teste da sua facilidade de utilização;
7. Acordo para substituição de produtos que não respeitem os procedimentos de controlo de qualidade previamente acordados; e
8. Dimensões dos volumes contentores adequada à frequência de utilização dos testes no local de destino, de modo a minimizar o acondicionamento em condições insuficientes e limitar a necessidade de abertura e dispersão do conteúdo dos volumes.

Adjudicação e a disponibilidade de informação sobre o produto

A par de considerações sobre a sensibilidade e custo de um produto, é útil conhecer a qualidade dos processos de manufactura, a viabilidade a longo prazo de uma companhia e a regularidade da qualidade da produção. Este factor influenciará a capacidade de uma companhia para a substituição de um produto, caso o lote recebido não cumpra os requisitos do processo de controlo de qualidade, e assegurará o abastecimento a longo prazo de um produto, de forma a minimizar a necessidade para nova formação. Os compradores devem exigir aos fabricantes o fornecimento de informação durante o processo de adjudicação (ver Caixa 4). O ponto 4 implica que o local de fabrico dos testes rápidos seja comunicado ao comprador, no caso de os testes serem re-etiquetados. A clareza do embalamento do produto final é essencial para permitir a identificação do tipo do produto, lotes de produção e prazo de validade.

IX. Transporte e acondicionamento de TRDIs

A exposição a temperaturas elevadas é, frequentemente, um factor contribuinte para um mau desempenho, em particular durante o transporte e o acondicionamento. O transporte desde as instalações do fabricante e o transporte viário nacional são períodos particularmente vulneráveis. Níveis elevados de humidade podem degradar rapidamente os testes, incluindo a exposição prolongada a humidade depois da remoção do envelope, no caso de a embalagem estar danificada. A maioria dos fabricantes recomenda que os testes rápidos sejam acondicionados a uma temperatura entre 4 e 30°C. Os prazos de validade são habitualmente definidos de acordo com essas condições. Se os kits forem acondicionados a temperaturas superiores aos limites recomendados, é provável que a vida em armazém dos testes rápidos seja reduzida e que percam a sensibilidade antes de atingido o prazo de validade. A manutenção de temperaturas entre 4 e 30°C para o transporte dos testes rápidos é essencial. O transporte dos testes das instalações dos fabricantes e dentro dos países deverá ser monitorizado como se descreve em seguida:

Transporte desde as instalações de fabrico

1. Antes do transporte, o fabricante contacta os clientes com detalhes sobre a identificação das guias de transporte, transportadora aérea, número do voo, número identificativo dos volumes e hora prevista de chegada ao destino. Estes dados devem ser enviados por e-mail e, em duplicado, por fax;
2. A transportadora (operadora aérea) é notificada sobre os requisitos de temperatura de acondicionamento pelo fabricante, por escrito e com marcações claras nos volumes e respectivos documentos (o acondicionamento da carga junto das paredes da aeronave pode resultar em congelamento);
3. O fabricante inicia o transporte apenas quando o cliente confirme a recepção da guia de transporte;;



4. O cliente coordena as operações de forma a que os agentes aduaneiros ou outro pessoal envolvido, presente na alfândega, possa receber os materiais: os carregamentos devem ser imediatamente transportados para acondicionamento em temperaturas moderadas (inferior a 30°C, se possível). Deve evitar-se deixar material nas pistas dos aeroportos, em armazéns de alfândegas ou no interior de veículos.

Transporte terrestre

O transporte terrestre durante qualquer etapa da entrega deve ser realizado sem demoras e com atenção à temperatura ambiente, tanto quando o veículo se encontra em marcha como quando está parqueado. Evitar deixar os testes rápidos no interior de veículos imobilizados ao sol.

Acondicionamento

1. O acondicionamento nas instalações de campo centrais e finais deve ser realizado de acordo com as especificações do fabricante;
2. Maximizar o tempo durante o qual os testes rápidos estão acondicionados em condições centralizadas e controladas; minimizar o armazenamento não controlado em locais remotos. A utilização de volumes menores pode facilitar esta tarefa;
3. Seleccionar uma localização periférica e fresca para acondicionamento; as coberturas de colmo podem ser mais frescas que as metálicas; potenciar o sombreamento; e / ou considerar câmaras de arrefecimento por evaporação. O transporte e armazenamento a temperaturas superiores a 30°C é, por vezes, inevitável, como sucede em numerosas localidades remotas às quais se destinam os testes rápidos. A monitorização da sensibilidade dos testes em intervalos regulares é, portanto, essencial. A OMS tem em preparação recomendações sobre os materiais a utilizar com vista à garantia da qualidade no que respeita a este tópico.



X. Avaliação da qualidade do programa de testes

Entre a recepção dos TRDIs do fabricante e a sua aplicação em campo, a sensibilidade do teste deve ser avaliada num laboratório central. Deverão desenvolver-se testes adicionais periodicamente ao longo de toda a vida em armazém do produto e deverá ser implementado um plano de recolha dos TRDIs, se necessário. Brevemente, a OMS fornecerá aos laboratórios centrais painéis de vírus inactivados, incluindo o vírus pandémico (H1N1) 2009 e a influenza sazonal A (H1N1, H3N2) e controlos negativos, que podem ser utilizados para verificar TRDIs antes da sua aplicação e para formação dos utilizadores finais.

Os profissionais de saúde que utilizem os testes deverão ser formados e monitorizados na sua proficiência na preparação e interpretação dos testes. Idealmente, tal deverá ser executado em tempo real e em campo, empregando amostras reais de pacientes, dado que a sensibilidade dos TRDIs é variável, tornando difícil a avaliação posterior dos testes.

A Garantia de Qualidade (GQ) deve constituir parte integrante dos orçamentos destinados aos TRDIs e aos planos de implementação.



A sensibilidade e especificidade dos testes e a importância da prevalência na estimativa da capacidade de previsão dos testes de diagnóstico

A sensibilidade e a especificidade de um teste não são os únicos parâmetros de importância na avaliação da sua adequação a uma dada população. A prevalência da doença é importante para a averiguação do seu valor previsto positivo e negativo. O valor previsto do mesmo teste pode variar entre países e entre diferentes populações no mesmo país, da forma que se apresenta em seguida:

Dada uma população de 10.000 com uma prevalência de influenza estimada em 1, 5, 10 e 15% e uma sensibilidade de teste de 85, 90 e 95% e especificidade de 95%, o valor previsto positivo (VPP) e o valor previsto negativo (VPN) e o número de testes falsos negativos e falsos positivos são os que se apresentam na seguinte Quadro:

Prevalência	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN	Nº. falsos negativos	Nº. falsos positivos
1%	85%	95%	15	100	15	495
1%	90%	95%	15	100	10	495
1%	95%	95%	16	100	5	495
5%	85%	95%	47	99	75	475
5%	90%	95%	49	99	50	475
5%	95%	95%	50	100	25	475
10%	85%	95%	65	98	150	450
10%	90%	95%	67	99	100	450
10%	95%	95%	68	99	50	450
15%	85%	95%	75	98	225	425
15%	90%	95%	76	98	150	425
15%	95%	95%	77	99	75	425

Os resultados apresentados no Quadro anterior não são específicos de testes rápidos, mas podem ser aplicados a todos os testes diagnósticos.

Referências

- Uyeki TM. Influenza diagnosis and treatment in children: a review of studies on clinically useful tests and antiviral treatment for influenza. *Pediatr Infect Dis J* 2003; 22: 164-77.
- Hurt AC, Alexander R, Hibbert J, Deed N, Barr IG. Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. *J Clin Virol* 2007;39:132-5.
- Faix DJ, Sherman SS, Waterman SH. Rapid-test sensitivity for novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. *N Engl J Med* 2009 Aug 13; 361(7): 728-9.
- Ginocchio CC, Zhang F, Manji R, et al. Evaluation of multiple test methods for the detection of the novel 2009 influenza A (H1N1) during the New York City outbreak. *J Clin Virol* 2009; 45:191-5.
- Hurt AC, Baas C, Deng YM, Roberts S, Kelso A, Barr IG. Performance of influenza rapid point-of-care tests in the detection of swine lineage A (H1N1) influenza viruses. *Influenza Other Respi Viruses* 2009; 3:171-6.
- Chan KH, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yuen KY, Peiris JS. Analytical sensitivity of rapid influenza antigen detection tests for swine-origin influenza virus (H1N1). *J Clin Virol* 2009; 45: 205-7.
- MMWR *Evaluation of Rapid Influenza Diagnostic Tests for Detection of Novel Influenza A (H1N1) Virus - United States, 2009 / 58(30); 826-829.*
- Vasoo S, Stevens J, Singh K. Rapid antigen tests for diagnosis of pandemic (Swine) influenza A/H1N1. *Clin Infect Dis* 2009 Oct 1; 49(7): 1090-3.
- Dexler JF, Helmer A, Kirberg H, Reber U, Panning M, Müller M, et al. Poor clinical sensitivity of rapid antigen test for influenza A pandemic (H1N1) 2009 virus. *Emerg Infect Dis* 2009 Oct; 15(10): 1662-4.
- Rouleau I, Charest H, Douville-Fradet M, Skowronski DM, De Serres G. Field performance of a rapid diagnostic test for influenza in an ambulatory setting. *J Clin Microbiol* 2009 Sep;47(9):2699-703.
- Uyeki TM, Prasad R, Vukotich C, Stebbins S, Rinaldo CR, Ferng YH, Morse SS, Larson EL, Aiello AE, Davis B, Monto AS. Low sensitivity of rapid diagnostic test for influenza. *Clin Infect Dis* 2009 May 1; 48(9): e89-92.

TDR  **Para investigação sobre
doenças ligadas à pobreza**
UNICEF • PNUD • Banco Mundial • OMS

TDR/Organização Mundial da Saúde
20, Avenue Appia
1211 Genebra 27
Suíça

Fax: (+41) 22 791-4854
tdr@who.int
www.who.int/tdr

O Programa Especial de Pesquisa e Capacitação em Doenças Tropicais (TDR) é um programa de escala global para a colaboração científica iniciado em 1975. Dedicar-se à investigação sobre doenças negligenciadas de que sofrem os desfavorecidos, com o objectivo de aperfeiçoar as abordagens existentes e desenvolver novas formas de prevenção, tratamento e controlo dessas doenças. O TDR é patrocinado pelas seguintes organizações:

ISBN 978 92 4 859928 6



unicef 

