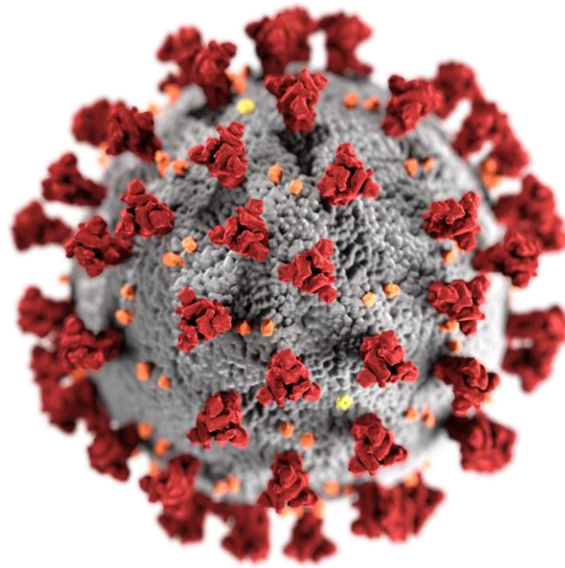




REPÚBLICA DE MOÇAMBIQUE
MINISTÉRIO DA SAÚDE

**GUIÃO PARA A IMPLEMENTAÇÃO DE TESTES DE DIAGNÓSTICO
RÁPIDOS DE ANTÍGENO PARA O SARS-CoV-2
EM MOÇAMBIQUE**



MAPUTO, OUTUBRO DE 2020

VERSÃO 01

COMITÉ DE ELABORAÇÃO

Elaboração:

Nádia Siteo, INS

Revisão:

Cassiano Carlos João, DNF

Eduardo Samo Gudo, INS

Félix Pinto, OrMM

Ilesh Jani, INS

Isabel Pinto, DNAM

José Paulo Langa, INS

Lorna Gujral, DNSP

Sofia Viegas, INS

Patrina Chongo, INS

Colaboradores:

Ana Fernandes, OMS

Carmen Barras, MSF

Chishamiso Mudenyanga, CHAI

Fádia Khan, OMS

Jessina Massamha, CDC

Aprovação:

Ministério da Saúde de Moçambique

Foto da capa:

https://pt.wikipedia.org/wiki/Ficheiro:SARS-CoV-2_without_background.png

Acrónimos e Abreviaturas

CMAM – Central de Medicamentos e Artigos Médicos

DCL – Departamento Central de Laboratório

DNF – Direcção Nacional de Farmácia

DPS – Direcção Provincial de Saúde

EPI – Equipamento de Protecção Individual

EQA – Avaliação Externa de Qualidade

FDA – Food and Drug Administration

HIV – vírus da imunodeficiência humana

INS – Instituto Nacional de Saúde

ISO – Organização Internacional de Padronização

MTV – Meio de Transporte Viral

OMS – Organização Mundial da Saúde

ONU – Organização das Nações Unidas

OrMM – Ordem dos Médicos de Moçambique

RNA – Ácido RiboNucleico

RT-PCR – reacção em Cadeia de Polimerase em Tempo Real

SARS-CoV-2 – Coronavírus do Síndrome Respiratório Agudo Grave 2

TDR – teste de diagnóstico rápido

UV – Raios Ultra Violeta

PREFÁCIO

A pandemia da COVID-19 continua a representar uma ameaça à Saúde Pública Global. Em Moçambique, o Plano Nacional de Preparação e Resposta à COVID-19 constitui o principal instrumento orientador na prevenção e mitigação dos efeitos da pandemia.

O diagnóstico laboratorial joga um papel chave da resposta nacional. Actualmente, o País dispõe de uma rede de laboratórios para a testagem da COVID-19 distribuída por quase todas as províncias. Contudo, estes laboratórios de testagem ainda se encontram localizados a nível das capitais provinciais. Para permitir o acesso ao diagnóstico da COVID-19 às áreas mais periféricas, e em semelhança ao que acontece para outras infecções, é necessário considerar a adopção de tecnologias simplificadas de diagnóstico.

A OMS endossou recentemente a utilização dos testes rápidos que detectam antígenos específicos para o SARS-CoV-2 com vista a aumentar o acesso ao diagnóstico. Estes testes são de execução relativamente simples, são fáceis de transportar, não necessitam de cadeia de frio para conservação e têm os resultados disponibilizados em menos de 20 minutos.

O presente guião orienta o processo de implementação de testes rápidos de detecção de antígeno para a testagem de SARS-CoV-2 em Moçambique, com o objectivo de garantir um diagnóstico atempado e de qualidade, contribuindo assim para o manejo adequado dos pacientes infectados, o bloqueio da cadeia de transmissão, a contínua monitoria de surtos causados por infecções respiratórias de etiologia viral e o controlo da pandemia causada pelo SARS-CoV-2.

Os testes de antígeno para SARS-CoV-2 são uma tecnologia recente. Assim, existe ainda a necessidade de gerar evidência científica sobre o seu desempenho em contextos epidemiológicos específicos. Neste âmbito, o presente guião irá sendo actualizado à medida que fiquem disponíveis novos resultados de avaliações a nível global e nacional.

Maputo, 12 Novembro de 2020

O Ministro da Saúde

(Prof. Doutor Armindo Daniel Tiago)

ÍNDICE

I.	Introdução	6
II.	Requisitos para a selecção de testes para implementação	7
III.	Factores que podem influenciar o desempenho do teste	9
IV.	Normas para a implementação dos TDR antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique	10
	2. Avaliação e verificação de TDR de antígeno	11
	3. Formação e competência	11
	4. Biossegurança	12
	5. Controlo de qualidade	12
	6. Utilização dos TDR-antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique	15
	7. Algoritmo de testagem usando TDR-antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique	17
V.	Notificação de casos testados e positivos	17
VI.	Bibliografia	18

I. Introdução

A COVID-19 (do inglês *Coronavirus Disease 2019*) é uma doença infecciosa causada pelo recém-descoberto coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2) (Xu B et al, 2020; OMS, 2020).

O diagnóstico laboratorial de SARS-CoV-2 é realizado por testes de reacção em cadeia de polimerase com transcrição reversa em tempo real (*rt-PCR*), para a detecção qualitativa de ácidos nucleicos do SARS-COV-2 em amostras das vias aéreas respiratórias superiores e inferiores, conforme recomendado pela OMS. Contudo, a complexidade deste tipo de testes tem sido um limitante importante para a expansão do diagnóstico da COVID-19. Novos testes que detectam antígenos em sistemas mais simplificados como Testes Rápidos de Antígeno (TDRs de antígeno), bem como outras tecnologias simplificadas de diagnóstico, representam uma peça importante para a rápida expansão do acesso ao diagnóstico.

Os TDR de antígeno de SARS-COV-2 são dispositivos similares aos TDRs de HIV e Malária, que têm como alvo as proteínas virais do nucleocapsídeo produzidos em maior número em indivíduos positivos. Os testes devem ser manuseados por pessoal devidamente treinado e os resultados ficam disponíveis para sua interpretação entre 15 e 20 minutos após a aplicação de amostra. Estes testes têm na sua embalagem materiais para a colheita de amostra (como zaragatoas) e uma solução tampão.

Os TDRs de antígeno têm a vantagem de ser de fácil utilização, podendo ser manuseados por pessoal que não é técnico de laboratório. Adicionalmente, estes TDRs permitirão a expansão do diagnóstico para locais remotos sem corrente eléctrica e cadeia de frio, e reduzirão o tempo de resposta para a entrega do resultado. No entanto, estes testes têm desvantagens pelo facto de muitos testes serem desenhados para amostras nasofaríngeas e nasais, e ter uma sensibilidade mais baixa em relação aos testes moleculares.

Vários estudos têm demonstrado que os TDRs de antígeno têm a sensibilidade e especificidade de 0-94% e acima de 97%, respectivamente. O seu desempenho é aceitável em pacientes com carga viral alta e com sintomas há menos de 7 dias. Contudo,

a OMS recomenda a avaliação destes testes para obtenção de mais evidências sobre o seu desempenho durante a implementação, tendo em conta a prevalência de cada país ou região geográfica.

Este guião descreve as orientações para a correcta implementação de TDRs de antígeno para o diagnóstico de SARS-CoV-2 em Moçambique. O guião será actualizado à medida que novas evidências científicas forem sendo geradas a nível global e nacional.

II. Requisitos para a selecção de testes para implementação

Vários factores deverão ser considerados para a selecção do TDR de antígeno para o diagnóstico de SARS-CoV-2 em Moçambique, nomeadamente:

- 1. Qualidade da validação do teste pelo fabricante:** A fonte dos dados usados para a validação, o desenho da validação (tipo de amostra, intervalo entre a testagem e o início dos sintomas), o tamanho amostral e o local de estudo (baseado na informação epidemiológica) deverão ser considerados. Como a concentração do vírus na amostra é o melhor preditor para avaliar a sensibilidade do teste, a selecção dos pacientes e do local do estudo são muito importantes.
- 2. Desempenho do teste:** a informação relacionada ao desempenho do TDR deverá ser cuidadosamente revista antes da implementação dos mesmos. Dever-se-á considerar testes com uma sensibilidade e especificidade mínimas de 80% e 97%, respectivamente. É **importante** verificar se a avaliação do teste foi feita com valores de carga viral baixos (CT acima de 30), assumindo que nesta fase é esperada uma concentração baixa do vírus no tracto respiratório.
- 3. Qualidade do fabricante e estado regulatório do teste:** Dever-se-á trabalhar com testes cujos fabricantes têm um sistema de gestão de qualidade implementado (por exemplo, ISO 13485) e com pelo menos uma aprovação pela entidade reguladora local ou autorização de venda livre pelo país fabricante e com resultados de avaliação publicados em revistas científicas por entidades independentes. A aprovação por uma entidade reguladora de referência (por

exemplo, FDA) e/ou listagem pela OMS para uso em emergência (EUL), deverão também ser considerados. Os testes devem ser adquiridos de distribuidores devidamente licenciados para o efeito pelo MISAU e que seus produtos tenham uma aprovação regulatória da Direcção Nacional de Farmácia.

- 4. Condições de armazenamento e tempo de vida:** Devem ser considerados testes com um tempo de vida útil de pelo menos 80% de tempo de vida quando armazenados a 30°C e idealmente 40°C.
- 5. Requisitos para colheita de amostra e execução do teste:** Os TDRs de antígeno para SARS-CoV-2 variam em relação aos requisitos para a testagem como o tipo de amostras, números de etapas de processamento, controlo acertado de tempo e interpretação de resultados, os quais poderão influenciar a duração do treino dos operadores e necessidades de apoio técnico.
- 6. Composição do teste:** Devem ser considerados testes que apresentem no seu kit os consumíveis necessários para a colheita de amostra como zaragatoa e tubo de mistura de amostra.

Nota:

Mesmo que os TDR de antígeno SARS-CoV-2 sejam simples de executar, eles exigem que os procedimentos recomendados pelo fabricante sejam estritamente seguidos com a devida atenção, principalmente no que concerne ao volume de amostra, tempo de incubação, condições de armazenamento e prazo de validade.

Os operadores deverão ter uma formação sobre a colheita de amostras, biossegurança, desempenho do teste, interpretação de resultados, reporte de resultados aos pacientes e gestão de lixo. Medidas de controlo de qualidade também devem ser implementadas.

A colheita de amostras é um dos factores críticos do processo e que afecta o desempenho dos TDRs. As instruções de uso devem ser seguidas cuidadosamente e os operadores devidamente formados. As instruções devem ser seguidas com precisão e

não devem ser usados reagentes alternativos, como por exemplo o tampão de diluição e outras soluções.

Os requisitos de biossegurança para os operadores devem ser seguidos. Estes requisitos incluem o uso de equipamento de protecção individual (EPI), uso de um recipiente para o descarte de resíduos de risco biológico e boa ventilação.

Para a implementação de TDR de antígenos SARS-CoV-2 em pacientes sintomáticos que se façam às unidades sanitárias, deve-se considerar locais onde o teste molecular não se encontra disponível ou quando houver dificuldades logísticas para um resultado atempado de casos urgentes.

III. Factores que podem influenciar o desempenho do teste

Vários factores têm influenciado o desempenho dos testes, dentre eles:

1. **Prevalência da região:** os valores preditivos positivo ou negativo (proporção de verdadeiros positivos ou negativos entre todos os indivíduos com teste positivo ou negativo) variam de acordo com a prevalência. Este factor deverá ser levado em consideração na selecção do teste.
2. **Paciente:** Estágio da doença, o tipo de amostra (tracto respiratório superior ou inferior), sua qualidade e processamento incluindo condições de armazenamento de amostra e diluição no meio de transporte viral.
3. **Vírus:** concentração e duração de eliminação dos antígenos virais, variação da estrutura do antígeno viral e reacção cruzada com outros vírus.
4. **Proteínas virais específicas:** alguns antígenos são produzidos em quantidades mais elevadas em relação a outros.

5. **Apresentação e qualidade do produto:** quantidade insuficiente de antígeno, degradação dos testes devido à qualidade de empacotamento, exposição a altas temperaturas e humidade durante o transporte e armazenamento. Falta de instruções ou instruções incorrectas que podem também afectar o desempenho do teste.
6. **Formação:** Formação ou competência do operador inadequadas, o que poderá influenciar na preparação do teste, realização ou interpretação de resultados com conclusões erradas.

IV. Normas para a implementação dos TDR antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique

A implementação TDR- antígeno será realizada de acordo com as seguintes normas:

1. Importação dos TDRs

Os TDR de antígeno de SARS-Cov-2, só podem importados para o território nacional se tiverem uma autorização de introdução no mercado - AIM (através de registo e autorização de importação especial ou doação), concedidos pelo MISAU, de acordo com os procedimentos emanados pela DNF.

- a) O MISAU, pode conceder a autorização de importação especial (autorização que isenta o registo do produto) ou de uma doação, sempre que cumpridas as seguintes condições:
 - O distribuidor possuir uma licença válida do MISAU;
 - O fabricante ter uma certificação na norma ISO 13485;
 - O TDR ter autorização de uso emergencial (EUA) pela USFDA e/ou constar na EUL da OMS;
 - Os testes possuem uma sensibilidade e especificidade conforme descrito no Capítulo II deste Guião.
 - As instruções de uso devem incluir informação na língua portuguesa.

Os testes só podem ser distribuídos aos estabelecimentos de saúde com instalações adequadas, que cumpram com os requisitos mínimos de biossegurança e com pessoal com competência comprovada para realização do TDR de antígeno de SARS-Cov-2.

O INS deve comunicar à DNF sobre todos os defeitos que comprometam o desempenho dos testes.

2. Avaliação e verificação de TDR de antígeno

A avaliação dos TDRs no País é um requisito **importante** para confirmar o desempenho do produto. Esta avaliação será feita pelo INS, como forma de gerar evidência científica sobre o desempenho dos testes nos diferentes contextos epidemiológicos e populações de risco do País.

A verificação da qualidade de cada lote de testes será feita pelo INS ou um laboratório designado, através de um procedimento laboratorial que será desenhado para o efeito, como um procedimento rotineiro de controlo de qualidade (Vide em detalhe a secção 5.1.1).

3. Formação e competência

A formação de todo o pessoal que realiza TDR-antígeno é essencial para garantir a qualidade da testagem da Covid-19.

A formação terá a duração de 2 dias e será composta por uma componente teórica e uma componente prática, incluindo os aspectos de biossegurança. Estas formações deverão ser implementadas em cascata. O INS, DNAM e parceiros serão responsáveis pela formação dos formadores provinciais. Os formadores provinciais serão responsáveis pela implementação da cascata de formação no nível provincial.

A competência de todos os indivíduos que realizam a testagem tem como objectivo assegurar que a testagem seja realizada apenas por indivíduos que demonstram competência técnica para realizar o teste com qualidade.

A avaliação da competência será realizada utilizando um guião padronizado. O teste de competência será composto por uma parte teórica e uma parte prática. Para o teste de

competência deverão ser utilizadas 10 amostras. A parte teórica é baseada em perguntas sobre realização do teste e interpretação do algoritmo nacional. Os profissionais que reprovarem na avaliação inicial de competência deverão repeti-la. Um certificado de competência será atribuído a todos os profissionais aprovados na avaliação da competência. Apenas os profissionais aprovados na avaliação de competência realizem a testagem em Moçambique.

4. Biossegurança

O TDR-antígeno apresenta maior risco durante a colheita da amostra. São requisitos mínimos de biossegurança para a realização do teste:

- A colheita e manipulação das amostras deve ser efectuada em local adequadamente ventilado, usando técnicas microbiológicas apropriadas.
- Os técnicos devem seguir as boas práticas laboratoriais e clínicas, e utilizar sempre o Equipamento de Protecção Individual (EPI) adequado (luvas, respiradores N95, batas descartáveis/macacão, calçados fechados, óculos protectores/ viseira, touca) durante a colheita e procedimento laboratorial.
- O descarte dos testes, material de colheita e outros resíduos potencialmente patogénicos deverão ser realizados como os outros TDRs (Ex. HIV e Malária), incinerados, autoclavados ou enterrados de acordo com o procedimento em vigor.

5. Controlo de qualidade

Os padrões de qualidade, segurança e desempenho do teste e de todos os locais que realizam a testagem devem ser garantidos. O fabricante do teste deve fornecer o certificado de qualidade e de segurança (ficha de dados de segurança ou MSDS) para a execução do teste.

A garantia de qualidade inclui:

- 1.** Verificação dos lotes (Central e Local)
- 2.** Controlo Interno de Qualidade
- 3.** Avaliação Externa de Qualidade
- 4.** Visitas de Apoio Técnico

5.1. Verificação de lotes

5.1.1. Verificação Central e validação

Sempre que entra um novo lote de testes no país é importante que se faça as verificações de todos, antes da sua distribuição aos locais de testagem, com vista a assegurar que os resultados sejam confiáveis e comparáveis aos padrões internacionais.

Para a distribuição inicial, devem ser enviados para o INS pelo menos 3 réplicas de cada lote recebido para se avaliar o seu desempenho, integridade, garantir que as instruções de uso estejam bem definidas, avaliar a dimensão dos erros aleatórios e sistemáticos, estabelecer condições ideais de uso e validar sua eficiência e ainda, junto destes, a cópia do certificado de qualidade fornecido pelo fabricante. Esta verificação e validação para distribuição e uso são efectuadas em até 5 dias úteis. Um relatório de desempenho e de validação será fornecido dentro do mesmo período.

5.1.2. Verificação Local

Após a recepção dos lotes, a nível local, deve ser efectuada uma verificação para confirmar desempenho dos testes e que durante o processo de referenciamento não esteve sujeito a condições de temperatura e pressão que interferiram no seu desempenho.

Esta verificação der ser efectuada de forma visual e laboratorial.

A verificação visual é feita com base na aparência e disponibilidade de todos os kits para a execução de um teste. Os itens podem incluir dependendo do fabricante: teste rápido, reagente de extração, kit de colheita (zaragatoa e meio viral), controlos positivos e negativos (conforme aplicável) e a bula com instruções de uso do teste e para efectuar a colheita da amostra.

A **Bula** dá a indicação das condições adequadas de manuseamento, de armazenamento, descrição das precauções e esclarecimentos sobre os riscos associados, e sempre que

aplicáveis, informações sobre o tipo de colheita (naso- ou orofaríngea), cuidados com as amostras, limitações do processo e orientações sobre o controlo interno de qualidade.

A verificação laboratorial de cada novo lote recebido e a utilizar deve ser executada com o uso de amostras com resultados conhecidos de pelo menos 2 amostras positivas e 2 negativas. Esta retestagem deve ter concordância de resultados em 100%, isto é, só poderá ser usado o novo lote se os resultados obtidos na retestagem forem os mesmos que os reportados anteriormente.

Sempre que os lotes e ou testes forem expostos a condições ambientais fora dos limites de estabilidade determinados pelo fabricante, a retestagem pode ser implementada para confirmação de desempenho aceitável.

5.2. Controlo Interno de Qualidade (CIQ)

Cada dispositivo de teste SARS-CoV-2 contém controlos internos/processuais positivos e negativos.

O CQ interno – presente no próprio do teste – verifica condições de armazenamento e desempenho técnico (quantidade amostra e reagente).

A linha de controlo interno presente no teste valida a integridade do dispositivo e do reagente, e assegura o procedimento correcto do teste.

NOTA: Os controlos internos não avaliam a qualidade da amostra, mas sim a qualidade do teste.

5.3. Avaliação Externa de Qualidade (AEQ)

Permite avaliar o desempenho do teste e do profissional de saúde, garantindo um resultado exacto e preciso.

Todos os locais que realizem a testagem devem participar do esquema da AEQ que será providenciado pelo INS. Os locais de testagem que recebem o painel de proficiência devem testá-lo e enviar o resultado dentro do prazo recomendado. Os resultados não aceitáveis devem ser investigados e acções correctivas implementadas e monitoradas.

5.4. Visitas de Apoio Técnico

Estas serão realizadas a todos os locais de testagem com particular destaque para aqueles com desempenho não aceitável na AEQ, usando uma lista de verificação padronizada para o efeito. As mesmas podem ser realizadas por uma equipa conjunta do nível central e provincial ou apenas por técnicos de nível provincial, dependendo dos objectivos. Estas visitas terão a duração de pelo menos dois (2) dias úteis.

6. Utilização dos TDR-antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique

O PCR possui desempenho analítico superior aos TDRs de antígeno para o diagnóstico de SARS-CoV-2, e por isso é o método padrão ouro e de eleição em Moçambique. O uso de TDRs de antígeno deve ser privilegiado nas situações ou populações bem definidas onde o uso do PCR enfrenta limitações operacionais ou logísticas. Este teste pode ser considerado em locais com alta transmissão de SARS-CoV-2, onde o sistema de diagnóstico implementado encontra-se sobrecarregado ou o acesso aos testes moleculares é restrito.

A utilização dos TDR-antígeno em Moçambique é feita nos seguintes contextos:

- 1.** Rastreio de contactos de casos positivos confirmados por RT-PCR em locais com padrão elevado de transmissão segundo os indicadores de monitoria definidos pelo MISAU.
- 2.** Investigação de surtos após a identificação do caso *index* por RT-PCR.
- 3.** Doentes que necessitem de hospitalização nos serviços de cuidados intensivos ou intermediários, em particular doentes com doença respiratória aguda, sempre que o RT-PCR não estiver disponível.
- 4.** Diagnóstico de casos suspeitos em locais com acesso limitado ao PCR em Tempo Real. A lista com os distritos que poderão usar o TDR-antígeno neste contexto será disponibilizada pelo MISAU e revista sempre que se mostrar pertinente.

A OMS actualmente não recomenda o uso dos TDR-antígeno para efeitos de viagem ou controlo nos pontos de entrada. No entanto, excepcionalmente, para quem venha de países com elevada transmissão e em regime de reciprocidade, os TDR-antígeno poderão ser usados em Moçambique para efeitos de controlo de passageiros que viajam para fora do País ou que estejam a chegar ao País.

Todos indivíduos com resultados negativos no TDR de antígeno e com sintomatologia sugestiva de SARS-CoV-2 deverão ser submetidos a um teste de RT-PCR.

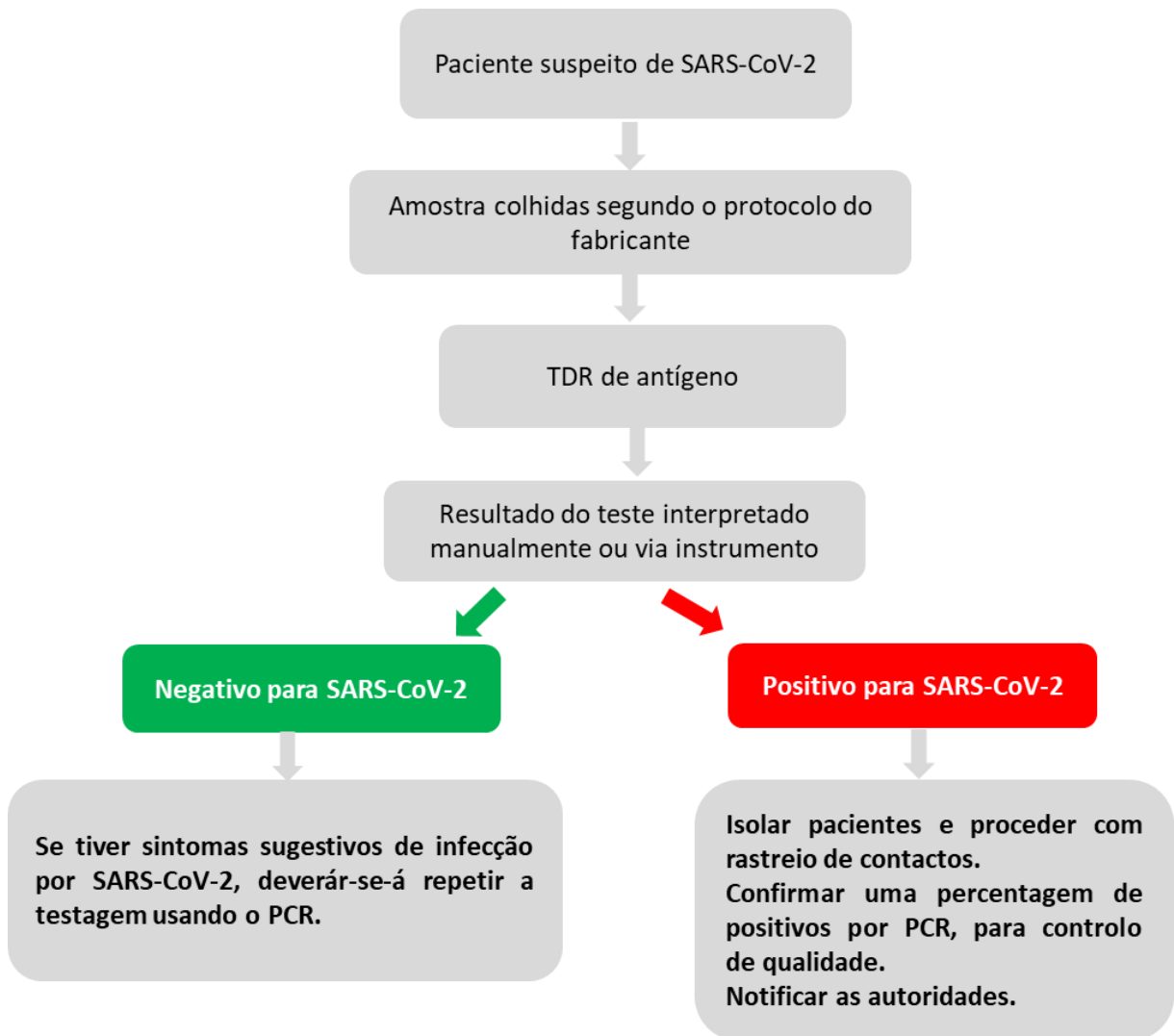
As situações nas quais o TDR-antígeno **NÃO** deve ser usado estão listadas na Tabela 1.

Tabela 1: Situações nas quais **não se recomenda** o uso de TDRs de antígeno para SARS-CoV-2.

Situações em que não se usa TDR de antígeno para o diagnóstico de SARS-CoV-2	Explicação
Em indivíduos sem sintomas a menos que seja contacto de um caso confirmado por RT-PCR	A probabilidade que o paciente tenha a doença com base na epidemiologia (baixa transmissão), história de contacto (sem contacto) e achados clínicos (sem sintomas), é baixa
Em locais geográficos sem padrão elevado de transmissão para o SARS-CoV-2	TDRs de antígeno não são recomendados para vigilância de rotina ou manejo de casos. Casos positivos poderão ser falsos positivos. Testes moleculares são os recomendados
Onde há falta de medidas de controlo de infecção	Para salvaguardar os profissionais de saúde, pois a colheita de amostras respiratórias para um paciente com suspeita de SARS-CoV-2 requer que o operador use luvas, bata, máscaras e protector de face
Para rastreio nos aeroportos ou fronteiras*	Os valores preditivos positivo e negativo podem variar com o grupo de viajantes, sendo sempre necessário um teste molecular confirmatório
Rastreio em doadores de sangue	Um TDR positivo pode não necessariamente ser correlacionado com a presença de virémia. Doadores de sangue assintomáticos não respondem aos requisitos para casos suspeitos

* com a excepção mencionada no texto acima

7. Algoritmo de testagem usando TDR-antígeno SARS-CoV-2 em Moçambique



V. Notificação de casos testados e positivos

A COVID-19 é uma doença de notificação obrigatória e todos os procedimentos em vigor na província devem ser seguidos. A ficha de investigação/notificação de caso de covid-2019 devem ser completamente preenchida sempre que um teste for realizado e notificado qualquer resultado positivo. Esta informação deve ser partilhada diariamente com o supervisor de vigilância que deve notificar aos Departamentos de Epidemiologia do MISAU e de Vigilância do INS. O MISAU deve notificar os casos testados e positivos à OMS dentro de 24 horas, em conformidade com os regulamentos do IHR (2005).

VI. Bibliografía

OMS (2008). International Health Regulations – 2005, 74 pág, ISBN: 9789241580410.

OMS (2020). Antigen-detection in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection using rapid immunoassays.