

Cartilha de orientação

Interpretação dos resultados do teste
ErbaLisa COVID-19 IgG e IgM

Objetivos da Cartilha	03
Compreendendo a leitura dos resultados do teste ErbaLisa Covid-19 IgM e IgG	04
Pontos importantes quanto à avaliação dos resultados antes da emissão do laudo	06
Pontos importantes quanto interpretação dos resultados dos testes sorológicos	07
Sugestão de modelo de laudo para testes sorológicos em ELISA	10
Notas técnicas	11
Dicas de Sites e Blogs que abordam esse assunto com qualidade	12

Objetivos da Cartilha

A close-up photograph of a laboratory microplate with several pipettes positioned over it. The pipettes are dispensing small droplets of a blue liquid into the wells of the microplate. The background is softly blurred, showing more of the laboratory equipment. The image is partially covered by a decorative orange and teal curved graphic at the bottom.

Além de fornecer o que existe de mais moderno na detecção sorológica de anticorpos anti-SARS-CoV-2, a Erba busca também ajudar seus clientes parceiros em todas as fases do processo de execução do teste, desde a operacionalização do kit até a interpretação dos resultados e liberação do teste.

Considerando-se as características os testes sorológicos para SARS-CoV-2 atualmente disponíveis no mercado, assim como o limitado conhecimento da resposta imune desenvolvida por aquelas pessoas infectadas pelo vírus, essa cartilha visa destacar importantes pontos de atenção quanto à **LEITURA, AVALIAÇÃO E INTERPRETAÇÃO dos resultados obtidos com o teste ErbaLisa COVID-19 IgG e IgM.**

Orienta, ainda, quanto ao **desenvolvimento do laudo que será apresentado ao corpo médico e ao cliente final**, levando em consideração não somente o resultado do teste, mas também o quadro clínico do paciente e os seus dados epidemiológicos.

Compreendendo a leitura dos resultados do teste ErbaLisa Covid-19 IgM e IgG

O teste ErbaLisa COVID-19 IgG e IgM pode ser realizado de forma automatizada (na qual o equipamento realiza todas as etapas do teste), ou, ainda, de forma manual (com todas as etapas realizadas com pipeta automática, dependendo somente de um leitor para registro da absorbância final).

Quanto ao cálculo dos resultados, seguem as diferenças:

a) Metodologia automatizada

Nesse caso, o equipamento lê a absorbância final do poço e calcula automaticamente o resultado em Índice, de acordo com a equação que foi previamente configurada juntamente ao protocolo de automação.

$$\text{Índice} = \text{Absorbância da amostra} / (\text{DO CAL} \times \text{FC})$$

DO CAL: densidade óptica do calibrador

FC: fator de calibração (encontra-se no frasco do calibrador)

Quanto ao cálculo dos resultados, seguem as diferenças:

b) Metodologia manual

Algumas leitoras possuem a funcionalidade de calcular o resultado em índice a partir da absorbância, sendo necessário apenas configurá-la com a equação adequada.

Caso a leitora não apresente essa função, é necessário fazer o cálculo conforme orientações abaixo.

- Primeiro, calcula-se o Cut-off: densidade do calibrador (DO CAL) x Fator de calibração (FC) - encontra-se no frasco do calibrador.
- A leitura da absorbância de cada amostra é dividida pelo Cut-off

$$\text{Cut-off} = \text{DO CAL} \times \text{FC}$$

$$\text{Índice} = \frac{\text{Absorbância da amostra}}{\text{Cut-off}}$$

- Por isso, é indispensável a dosagem do calibrador em cada corrida.

Compreendendo a leitura dos resultados do teste ErbaLisa Covid-19 IgM e IgG

O controle de qualidade é indispensável em todos os setores do laboratório clínico, não sendo diferente nos testes sorológicos de ELISA. A avaliação dos resultados dos controles positivo e negativo garantem ao laboratório que o kit está funcionando corretamente e os resultados são válidos, podendo ser liberados para o paciente.

Por isso, é indispensável que os controles sejam acrescentados em todas as corridas.

- Para validação das corridas, os seguintes pontos devem ser observados:

- 1 A **DO** do calibrador deve ser maior que 0,250
- 2 O índice para controle negativo deve ser menor que 0,9
- 3 O índice para o controle positivo deve estar dentro da faixa especificada na etiqueta do frasco.

- Após validação da corrida, os resultados qualitativos são interpretados da seguinte maneira:

Menor que 0,9:	negativo
Entre 0,9 e 1,1:	indeterminado
Maior que 1,1:	positivo

Pontos importantes quanto à avaliação dos resultados antes da emissão do laudo

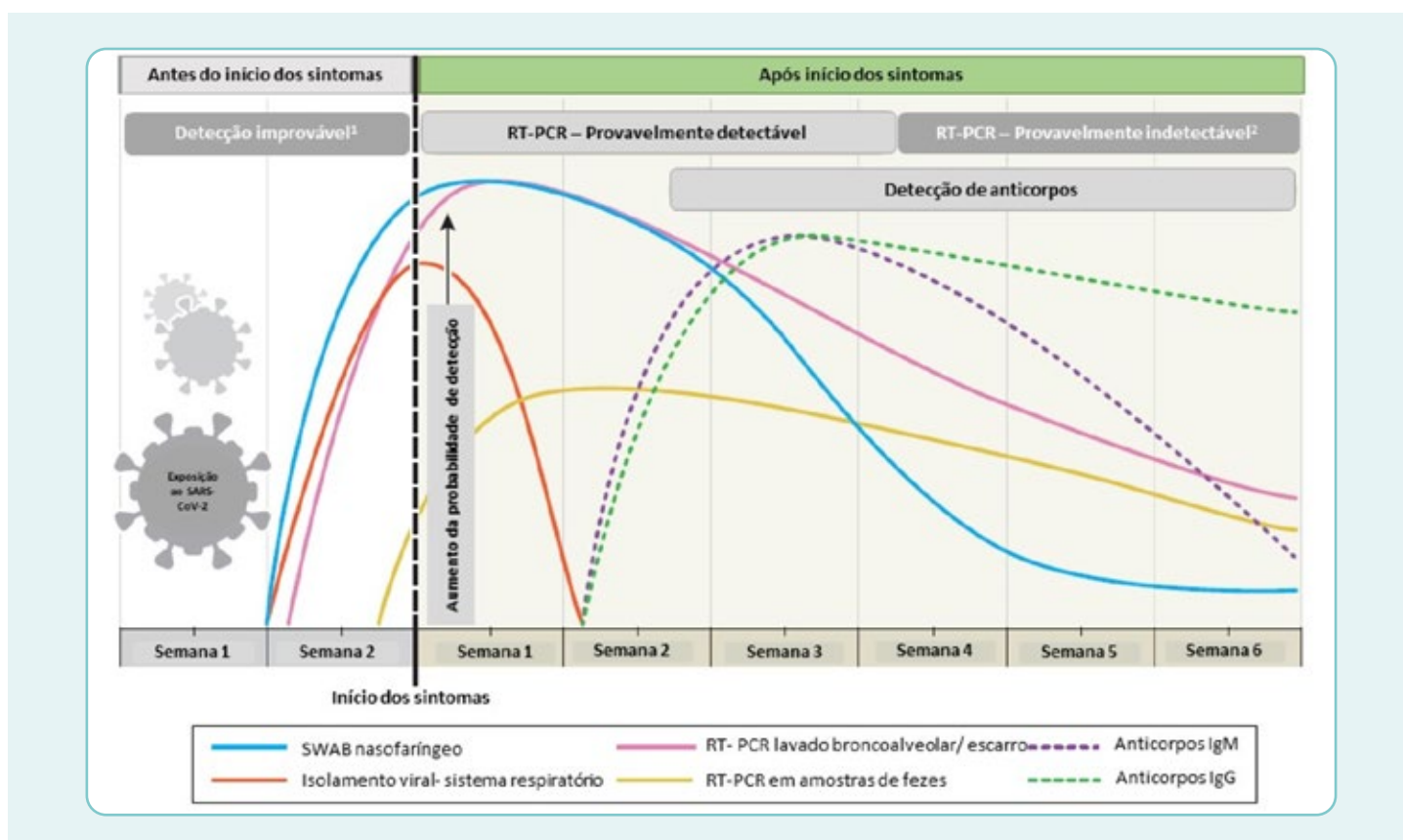
A interpretação dos testes sorológicos está fortemente ligada a uma boa compreensão da resposta imune frente aos agentes infecciosos e, conseqüentemente, à dinâmica de produção de anticorpos. No entanto, o conhecimento dessa resposta ainda é limitado para o novo coronavírus, o que gera muitas dúvidas quanto aos resultados obtidos.

a) Provável variação do comportamento dos testes sorológicos

É fundamental compreender como se dá a resposta imune de forma geral em casos de infecções virais. A presença de IgM é detectada mais precocemente (aproximadamente após 7 dias do início dos sintomas) que a presença de IgG (aproximadamente após 10 dias do início dos sintomas).

No entanto, é preciso entender que conhece-se muito pouco sobre a resposta imune ao SARS-CoV-2 e tem sido observados casos nos quais a resposta é diferente daquela a qual estamos acostumados.

Provável variação do comportamento dos testes diagnóstico para detecção da infecção pelo SARS-CoV-2 ao longo do tempo considerando-se o início dos sintomas



- 1 - Detecção ocorre apenas se os pacientes forem acompanhados de forma proativa a partir do momento da exposição
- 2- Maior probabilidade de ocorrer um resultado não detectável de RT-PCR com amostras de SWAB nasofaríngeo

FONTE: Adaptado de Sethuraman, N.; Jeremiah, S.S & Ryo, A., 2020.

Pontos importantes quanto à avaliação dos resultados antes da emissão do laudo

b) Diversos estudos mostram que a resposta imune nem sempre segue o padrão esperado

Estudos e relatos do cotidiano do laboratório clínico tem mostrado a presença de anticorpos IgM a partir do terceiro dia após o início dos sintomas, assim como há relatos da presença desses anticorpos somente depois do décimo dia após o início dos sintomas. Tem-se observado ainda casos nos quais a produção de IgM ocorre por um período curto, inferior a cinco dias, enquanto em outros casos observa-se a presença de IgM por mais de 30 dias.

Também tem-se observado grandes variações no que refere aos períodos de detecção do IgG, com relatos de casos positivos a partir do quinto dia e outros a partir do vigésimo dia. Já foram descritos na literatura, ainda, casos de pacientes que deixaram de apresentar IgG após certo tempo, sugerindo que a imunidade pode não ser duradoura.

Há relatos, ainda, de pacientes que não desenvolveram anticorpos anti-SARS-CoV-2.

Dessa forma, fica claro que o resultado sorológico não deve ser avaliado isoladamente, devendo-se levar em consideração o histórico do paciente, assim como seus dados epidemiológicos.

c) O teste sorológico é apenas uma das ferramentas que auxiliam o diagnóstico

O resultado de um teste sorológico, por si só, não é suficiente para diagnosticar COVID-19!

É fundamental que o resultado seja avaliado por um profissional de saúde qualificado, que irá realizar também a anamnese e dados epidemiológicos do paciente em questão.

Os testes sorológicos só terão resultados positivos quando o paciente estiver produzindo uma quantidade detectável de anticorpos, o que nem sempre acontece no momento do teste. Por isso, resultados negativos **não excluem** a possibilidade de infecção.

Pontos importantes quanto à avaliação dos resultados antes da emissão do laudo

d) Todas as informações do paciente são cruciais para o diagnóstico

Por isso, ao realizar as análises, as informações obtidas do paciente são fundamentais, seja qualquer sinal de sintomatologia (perda de olfato/paladar, febre, tosse, diarreia) ou mesmo exposição à regiões com alto número de casos ou com pessoas sabidamente contaminadas. Essas informações devem ser datadas com a maior precisão possível, pois colaboram na análise da aplicabilidade da testagem sorológica.

Além disso, é importante ter conhecimento de doenças pré-existentes do paciente, crônicas ou não, pois podem ocorrer resultados falso positivos. Apesar de todos os fabricantes testarem seus kits para a ocorrência de reações cruzadas, em geral o volume de amostras é pequeno, sendo que na prática não é possível garantir que não irão ocorrer reações cruzadas.

e) Avaliação dos resultados sorológicos

Tudo isso torna a avaliação ou validação de resultados de pacientes assintomáticos ainda mais desafiadora. Por isso, cabe ao médico solicitante a avaliação da necessidade e indicação para o teste, assim como da interpretação do resultado e necessidade de realização de outros testes (como PCR, por exemplo).

Ao laboratório, cabe a execução dentro dos mais rigorosos padrões de qualidade, seguindo as orientações da **“Cartilha de orientação: Operacionalização dos kits ErbaLisa COVID-19 IgG e IgM”**, e comunicar ao solicitante as vantagens, limitações da técnica e sugestão de aplicação de outra técnica de pesquisa, como o RT-PCR.

Como qualquer resultado laboratorial, os resultados obtidos através do ErbaLisa COVID-19 IgG e IgM devem ser, exclusivamente, avaliados pelo médico assistente, junto a dados clínicos, histórico do paciente e exames complementares.

Esses comunicados devem ser feitos com o paciente e com o médico a partir de notas técnicas, que deverão constar no laudo juntamente ao resultado.

Pontos importantes quanto à avaliação dos resultados antes da emissão do laudo

Uma vez que os resultados sorológicos podem ser positivos, indeterminados ou negativos, a combinação de resultados dos testes IgG e IgM podem ser confusas. A tabela abaixo visa orientar quanto aos possíveis resultados e sua provável interpretação.

Essa interpretação deve auxiliar na elaboração das notas técnicas a serem liberadas junto ao resultado no laudo, assim como auxiliar o médico no entendimento da fase da doença naquele paciente em questão.

IGA OU IGM	IGG	INTERPRETAÇÃO	OBSERVAÇÃO
Negativa	Negativa	Sem evidência sorológica de infecção por SARS-CoV-2 nessa amostra	Um único resultado negativo não exclui a hipótese de Covid-19 atual ou pregressa. Se persistir a hipótese diagnóstica, sugere-se, a critério médico, repetir o teste em nova amostra, colhida após sete dias ou mais. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Negativa	Indeterminada	Provável reatividade inespecífica de IgG	Um único resultado negativo ou indeterminado não exclui a hipótese de Covid-19 atual ou pregressa. Se persistir a hipótese diagnóstica, sugere-se, a critério médico, repetir o teste em nova amostra colhida após sete dias ou mais. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Negativa	Positiva	Evidência sorológica de infecção pregressa por SARS-CoV-2	O resultado sugere que já tenham transcorrido mais de três semanas desde a infecção aguda. A capacidade protetora dos anticorpos da classe IgG não é completamente estabelecida.
Indeterminada	Negativa	Reatividade inespecífica de IgA ou IgM ou início de soroconversão	O resultado indeterminado pode se dever a uma reatividade inespecífica ou ao início de soroconversão. Se persistir a hipótese diagnóstica, sugere-se, a critério médico, repetir o teste em nova amostra colhida após sete dias. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Indeterminada	Indeterminada	Resultado indeterminado para infecção por SARS-CoV-2	O resultado indeterminado pode se dever a uma reatividade inespecífica ou ao início de soroconversão. Se persistir a hipótese diagnóstica, sugere-se, a critério médico, repetir o teste em nova amostra colhida após sete dias. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Indeterminada	Positiva	Evidência sorológica de infecção pregressa por SARS-CoV-2	O resultado indeterminado de IgA ou IgM possivelmente é residual, sugerindo que já tenham transcorrido mais de três semanas desde a infecção aguda. A capacidade protetora dos anticorpos da classe IgG não é completamente estabelecida.
Positiva	Negativa	Possível evidência sorológica de infecção recente por SARS-CoV-2	Em decorrência da possibilidade de falsa reatividade de IgA ou IgM, sugere-se, a critério médico, a repetição do teste em nova amostra colhida após sete dias para verificar a soroconversão de IgG, aumentando, assim, o valor preditivo positivo do teste. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Positiva	Indeterminada	Possível evidência sorológica de infecção recente por SARS-CoV-2	Em decorrência da possibilidade de falsa reatividade de IgA ou IgM, sugere-se, a critério médico, a repetição do teste em nova amostra colhida após sete dias para verificar a soroconversão de IgG, aumentando, assim, o valor preditivo positivo do teste. Considerar períodos mais longos em pacientes oligo ou assintomáticos.
Positiva	Positiva	Evidência sorológica de infecção recente por SARS-CoV-2	A capacidade protetora dos anticorpos da classe IgG não é completamente estabelecida.

Sugestão de modelo de laudos para testes sorológicos em ELISA

O laudo é um documento importantíssimo no qual, além do resultado do exame, deve constar também qualquer ressalva ou orientação ao médico que irá interpretar esse resultado.

Os resultados do teste ELISA, por sua vez, podem ser liberados de forma qualitativa (positivo, indeterminado ou negativo), de forma semi-quantitativa (com o resultado do índice) ou, ainda, com os dois resultados.

Sorologia para COVID-19 (IgM/IgG) - ELISA

Anti-SARS-CoV-2, Anticorpos IgM: **REAGENTE** 1,532

Anti-SARS-CoV-2, Anticorpos IgG: **REAGENTE** 1,320

Material: Soro NCOV.

Método: ELISA.

Valores de referência (Aplicados a IgM e IgG):

Não reagente: inferior a 0,9

Indeterminado: 0,9 a 1,1

Reagente: Superior a 1,1

A grande maioria dos laboratórios tem preparado laudos com resultados de índice e com os resultados qualitativos (positivo, negativo ou indeterminado). Exemplo:

É totalmente aceitável liberar os resultados de índice juntamente ao resultado qualitativo. No entanto, o laboratório, o paciente e o médico devem estar cientes de que:

- 1 Os testes ELISA atualmente disponíveis para COVID-19 são semi-quantitativos.
- 2 O índice não é o valor de concentração de anticorpos na amostra. Atualmente, não existem métodos sorológicos que quantificam os anticorpos anti-SARS-CoV-2.
- 3 O índice é um valor calculado utilizado para orientar o resultado qualitativo do teste.
- 4 Os índices podem variar muito entre fabricantes, isso ocorre devido à formulação dos reagentes, proteína viral utilizada, concentração dos componentes, entre outros. Por isso, não deve-se, em hipótese alguma, comparar os valores de índices entre diferentes fabricantes.

Notas técnicas

Conforme explicado anteriormente, o laudo é um documento muito importante pois, além do resultado, apresenta também orientações para a interpretação daquele teste em questão. Tais ressalvas ou orientações são liberadas na forma de notas técnicas e são essenciais ao laboratório, pois resguardam o mesmo de qualquer questionamento que possa ocorrer por parte do paciente ou médico em relação aos resultados.

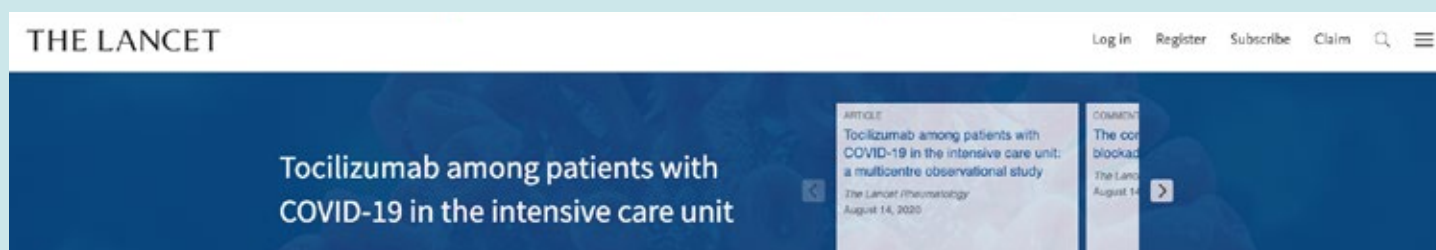
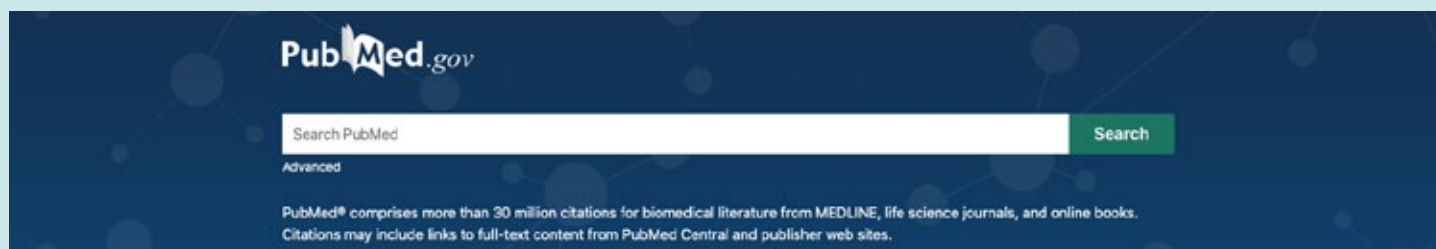
Esses questionamentos podem ocorrer justamente pelo pouco conhecimento que ainda se tem sobre o comportamento do vírus ou sobre a resposta imune para o mesmo.

Seguem alguns exemplos de notas técnicas que vem sendo utilizadas por diversos laboratórios:

- 1 A dinâmica da resposta de produção de anticorpos durante os diferentes estágios da infecção pelo SARS-CoV-2 ainda não está totalmente estabelecida. Portanto, os testes devem ser interpretados com cautela.
- 2 Os testes imunológicos não devem ser utilizados como método de triagem em quadros suspeitos de COVID-19.
- 3 Para casos de resultados indeterminados, sugerimos, a critério clínico, a repetição da sorologia após 7 dias para a detecção do incremento deste anticorpo, uma vez que o paciente pode estar em soroconversão.
- 4 A pesquisa de anticorpos deve ser utilizada no diagnóstico de COVID-19, preferencialmente, na fase tardia após o início da doença. Menos de 40% dos pacientes têm anticorpos detectáveis nos primeiros 7 dias de sintomas.
- 5 Um resultado **NÃO REAGENTE** não descarta uma infecção por SARS-CoV-2, principalmente nas fases iniciais da doença. Por isso, não deve ser usado como única base para decisão diagnóstica e para interrupção do isolamento.
- 6 Não se sabe ao certo se indivíduos infectados que se recuperaram e desenvolveram anticorpos são protegidos (total ou parcialmente) contra infecções futuras ou quanto tempo essa imunidade pode durar. Mais estudos são necessários para confirmar a imunidade protetora.
- 7 Há relatos na literatura de reação cruzada com outros tipos de coronavírus. Portanto, resultados reagentes podem ocorrer devido a infecção passada ou presente com cepas de coronavírus não-SARS-CoV-2, como HKU1, NL63, OC43 ou 229E.
- 8 Os resultados laboratoriais devem ser sempre considerados no contexto clínico e epidemiológico do paciente para estabelecimento de um diagnóstico.

Dicas de Sites e Blogs que abordam esse assunto com qualidade

Clique na imagem e saiba mais





MATRIZ

Rua Chopin 33, Mezanino 3 – Sala 4
Bairro Chácara Reunidas – Santa Therezinha
Contagem – MG



FILIAL

Biotech Town
Avenida Princesa Diana, 115
Nova Lima – MG



CONTATO GERAL/ASSUNTOS REGULATÓRIOS

contato-brasil@erbamannheim.com



CONTATO COMERCIAL

brazilsales@erbamannheim.com



**CLIQUE AQUI E FALE COM A ASSESSORIA
CIENTÍFICA ERBA BRASIL**

31 99950-2785

