



**Organização
Mundial da Saúde**

ESCRITÓRIO REGIONAL **Africano**

GUIA PRACTICO

para a recolha, armazenamento e
transporte de amostras para a
confirmação laboratorial do coronavírus
da síndrome respiratória do Médio
Oriente (MERS-CoV)

Programa de Vigilância Integrada das Doenças

Grupo de Prevenção e Controlo de Doenças

Julho de 2013



**Organização
Mundial da Saúde**

ESCRITÓRIO REGIONAL **Africano**

GUIA PRÁTICO

**para a recolha, armazenamento e transporte de
amostras para a confirmação laboratorial do
coronavírus da síndrome respiratória do Médio
Oriente (MERS-CoV)**

Julho de 2013

**Programa de Vigilância Integrada das Doenças
Grupo de Prevenção e Controlo de Doenças**

Organização Mundial da Saúde

Escritório Regional para a África

Brazzaville • 2013

Índice

	Página
Introdução	3
Contexto	3
Recolher e manusear amostras para o teste do MERS-CoV	5
Quando recolher as amostras	5
Que amostras recolher	5
Como preparar a documentação	6
Quais os aprovisionamentos necessários	7
Como recolher as amostras	8
Como armazenar as amostras	11
Como embalar as amostras	11
Como transportar as amostras	13
Referências	14

Guia Prático para a recolha, armazenamento e transporte de amostras para a confirmação laboratorial do coronavírus da síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV)

Introdução

Este guia prático lida com os procedimentos para a recolha e processamento de amostras respiratórias com vista à confirmação laboratorial do coronavírus da síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV). Ele deve ser utilizado principalmente pelos prestadores de cuidados de saúde e funcionários da saúde pública durante a investigação de casos suspeitos de MERS-CoV. Não pretende ser um manual exaustivo sobre procedimentos laboratoriais.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) continua a monitorizar de perto a situação do MERS-CoV em todo o mundo e se houver alterações que possam afectar os procedimentos presentes neste guia, a OMS publicará uma actualização destes procedimentos. Caso contrário, este documento irá expirar 12 meses após a data da sua publicação.

Estas recomendações foram preparadas pela OMS e revistas por peritos laboratoriais. Parte do processo de revisão envolveu a análise da literatura existente sobre MERS-CoV.

Contexto

Os coronavírus são uma grande família, que inclui vírus responsáveis por uma grande variedade de doenças nos humanos, desde a gripe comum à síndrome respiratória aguda grave (SRAG). Os vírus desta família também causam várias doenças nos animais.

O MERS-CoV é uma estirpe específica que não foi previamente identificada em humanos. A informação acerca da sua transmissão, gravidade e impacto clínico é limitada e apenas foi notificado um pequeno número de casos até agora.

Embora não seja conhecido qual o período da doença em que a exposição ao vírus resulta em infecção, ou a natureza da exposição que leva à infecção, o período de incubação do MERS-CoV nos doentes com exposição verificada ou com fortes suspeitas de exposição é normalmente menos de uma semana, tal como foi confirmado através de testes laboratoriais. As evidências de doentes expostos ao longo do tempo sugerem que um período de incubação superior a uma semana ocorre apenas numa minoria dos casos, e este é sempre inferior a duas semanas.

Todas as pessoas com uma infecção confirmada de MERS-CoV tinham doenças respiratórias, a maior parte delas pneumonia, e metade não sobreviveu. As complicações durante a evolução

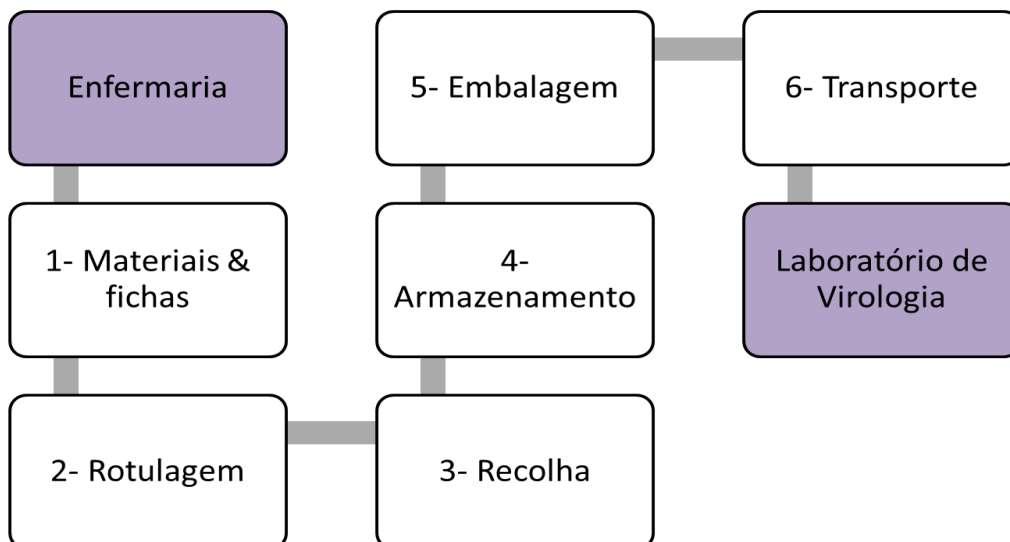
da doença incluem pneumonia grave com insuficiência respiratória que requer uma ventilação mecânica, síndrome da dificuldade respiratória do adulto (SDRA) com insuficiência de vários órgãos, insuficiência renal com necessidade de hemodiálise, coagulação intravascular disseminada e pericardite. Durante a doença foram observados sintomas gastrointestinais em vários casos, incluindo diarreia.

O acesso a testes laboratoriais atempados e precisos de amostras de casos a serem investigados é uma parte essencial da vigilância desta infecção emergente. Cada país deve possuir as suas próprias instalações de testes seguras para a detecção primária ou para o teste de confirmação do MERS-CoV ou ter um acesso garantido a instalações de outro país.

É importante seguir os procedimentos adequados durante a recolha e processamento de amostras pois podem ter implicações nos resultados dos testes de laboratório. Por exemplo, os resultados falso-negativos podem originar de:

- amostras de má qualidade, como uma amostra da via respiratória que contém principalmente material orofaríngeo
- amostras recolhidas em fases demasiado tarde ou demasiado cedo da doença
- manuseamento ou expedição inadequados das amostras

O manuseamento apropriado das amostras MERS-CoV é essencial durante todas as fases, desde a recolha ao teste de laboratório



Este documento fornece orientações sobre os procedimentos para a recolha, manuseamento e transporte de amostras desde a enfermaria até ao laboratório de referência, seja dentro ou fora do país, para a confirmação do MERS-CoV. Ele abrange todos os principais componentes deste processo:

- quando recolher as amostras
- que amostras recolher
- como preparar a documentação
- quais os abastecimentos necessários
- como recolher as amostras
- como armazenar as amostras
- como embalar as amostras
- como transportar as amostras

Recolher e manusear amostras para a confirmação do MERS-CoV

Antes da recolha de amostras para realizar o teste de MERS-CoV, deve-se determinar se o doente cumpre os actuais requisitos do MERS-CoV definidos pela OMS (ver http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/index.html).

Quando recolher as amostras

As amostras das vias respiratórias para a detecção directa de ácidos nucleicos podem ser recolhidas a qualquer altura durante a fase crítica da doença, embora a melhor altura seja durante a primeira semana. As amostras devem ser recolhidas, se possível, em períodos diferentes após o início dos sintomas.

Que amostras recolher

Várias amostras são apropriadas para diagnosticar o MERS-CoV, incluindo amostras das vias respiratórias e do soro tanto da fase crítica como da convalescente. Este documento aborda as amostras das vias respiratórias.

As evidências existentes sugerem que as amostras de nasofaríngeos com Swabs não são tão sensíveis como as amostras das vias respiratórias inferiores na detecção da infecção MERS-CoV. Ainda não foram feitas comparações de igual para igual nas duas abordagens, mas em alguns doentes e no decurso da mesma doença as amostras nasofaríngeos com Swabs resultaram em resultados negativos para MERS-CoV a determinado período enquanto as amostras das vias

respiratórias inferiores davam resultados positivos noutra. Para além disso, em vários grupos, os Swabs nasofaríngeos de pessoas com uma forte suspeita de infecção MERS-CoV – por terem estado directamente expostas e terem uma doença respiratória grave – davam resultados negativos, enquanto as amostras das vias respiratórias inferiores de outras pessoas no grupo davam resultados positivos.

A OMS recomenda actualmente que se utilize, sempre que possível, amostras das vias respiratórias inferiores, como expectoração, aspirado endotraqueal e lavagem broncoalveolar, para além dos Swabs nasofaríngeos, para diagnosticar a reacção da polimerase em cadeia (PCR) até que esteja disponível outra informação a detalhar as melhores práticas. Para aumentar as probabilidades de detectar a infecção, é recomendado que se recolha amostras de diferentes locais.

Os doentes com uma forte suspeita de terem a infecção MERS-CoV que apresentaram resultados negativos nos testes iniciais em que foram utilizadas amostras de esfregaços nasofaríngeos devem ser novamente testados, sendo utilizadas amostras das vias respiratórias inferiores. Se as amostras das vias respiratórias inferiores não poderem ser recolhidas, o teste deve ser repetido utilizando amostras das vias respiratórias superiores, com a adição de uma amostra orofaríngea.

Como preparar a documentação

A informação que deve ser fornecida sobre a investigação do caso e as fichas de laboratório que acompanham as amostras são estipulados nas *Orientações técnicas da vigilância integrada das doenças* ou no *Protocolo de vigilância sentinela da gripe*.

A ficha de recolha de dados no campo deve incluir a informação geral sobre o doente, tipo de amostras e a data em que foram recolhidas, informação de contacto da pessoa que está a preencher o formulário, etc. Sempre que possível, a informação deve descrever a apresentação clínica da doença, incluindo a data do despoletar dos sintomas, ocorrência de complicações e a história natural da infecção. É também fundamental que o profissional de saúde que recolhe as amostras obtenha os detalhes do historial de exposição clínica do doente, contacto com animais e viagens recentes a áreas onde foi notificada uma epidemia.

Cada recipiente de amostras deve ser rotulado com o número de identificação do doente, o tipo de amostra e a data da recolha.

Quais os aprovisionamentos necessários

Antes de se começar a manusear as amostras, deve-se ter a certeza de que todo o material necessário para a recolha eficaz e segura e para o transporte para o laboratório está preparado. A lista proposta de materiais essenciais deve incluir:

- luvas estéreis de látex ou nitrilo
- roupas protectoras como uma bata, casaco ou avental
- máscaras
- visor ocular, óculos de protecção ou protecção facial
- desinfectante químico, como hipoclorito
- caixas de armazenamento triplas
- recipiente estanque para a eliminação de resíduos

Para as amostras das vias respiratórias inferiores são necessários os seguintes materiais, para além dos essenciais já referidos:

- expectoração ou armadilha de muco
- aplicador com extremidades em fibra de poliéster
- frascos de plástico
- abaixador de língua
- copo estéril, estanque, com tampa roscada para recolha de expectoração ou recipiente seco e estéril
- pipetas de transferência

Para as amostras das vias respiratórias superiores, devem ser acrescentados os seguintes itens à lista:

- Swabs — devem ser utilizados apenas esfregaços Dacron ou Rayon estéreis com hastes de plástico ou esfregaços floculados, caso estejam disponíveis. NÃO devem ser utilizados esfregaços de alginato de cálcio ou esfregaços de madeira, uma vez que estes podem conter substâncias que neutralizam os vírus e inibem algumas análises moleculares.
- Meio de transporte de vírus para armazenar e expedir os esfregaços.

Como recolher as amostras

Todas as amostras devem ser consideradas como possíveis infecciosas e os profissionais de saúde que lidam com amostras clínicas devem seguir rigorosamente as precauções padrão, de modo a minimizar a possibilidade de exposição a patogénicos. As amostras MERS-CoV devem ser manuseadas de acordo com as práticas apropriadas de biossegurança, de modo a evitar infecções relacionadas com o laboratório e a disseminação da doença.



As precauções padrão devem ser sempre seguidas e devem também ser utilizadas barreiras de protecção por todo o pessoal que recolhe amostras de doentes. É importante não esquecer que as medidas de segurança e descontaminação protegem o colector da amostra e os seus colegas, o pessoal de laboratório e o doente de riscos associados à recolha de amostras.

Deve ser utilizado vestuário de protecção pessoal ao lidar com as amostras

As amostras clínicas dos doentes devem ser recolhidas por pessoal qualificado. É essencial que sejam identificadas antecipadamente as pessoas que ficarão responsáveis pela recolha das amostras nas enfermarias e as que ficarão responsáveis pelos aspectos logísticos do manuseamento das amostras desde a enfermaria até ao laboratório.

Amostras das vias respiratórias inferiores

Devido à escassez de pessoal com capacidades e equipamento técnicos adequados, o número de pessoas a quem podem ser recolhidas amostras das vias respiratórias inferiores para além da expectoração pode estar limitado às pessoas hospitalizadas.

Expectoração: A recolha de expectoração produzida naturalmente pode representar um risco especial de infecção para os profissionais de saúde. O profissional de saúde que recolhe a amostra tem de se assegurar que o material vem das vias respiratórias inferiores. É importante explicar ao doente a diferença entre expectoração e secreções orais. O doente tem de primeiro bochechar a boca com água. Depois, deve respirar fundo e expelir expectoração de tosse profunda directamente para um copo de recolha estéril, estanque, com tampa roscada ou para um recipiente seco e estéril.

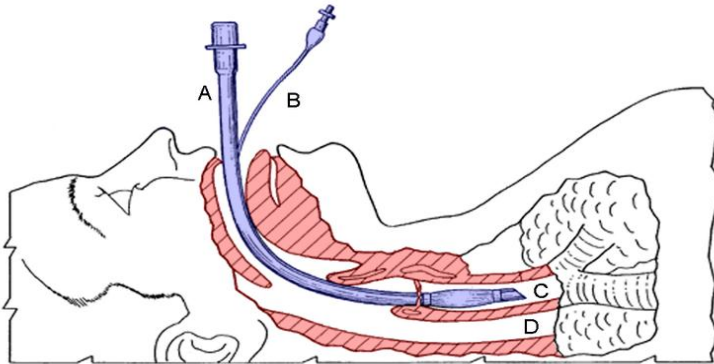
As amostras de 3-5 ml de material mucopurulento viscoso são consideradas como amostras de boa quantidade e qualidade.

Aspirado endotraqueal: A recolha de um aspirado endotraqueal é um procedimento médico



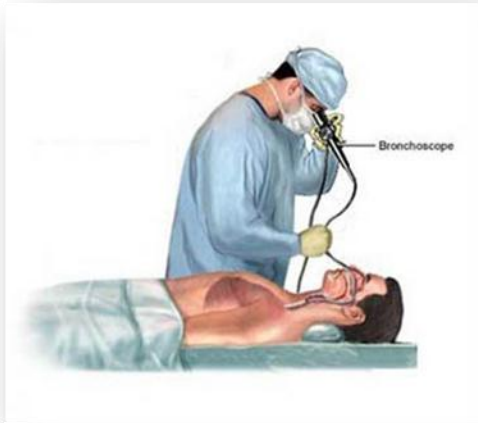
em que as amostras aspiradas são obtidas de um doente entubado. As amostras de aspirados traqueais, que devem ser manuseadas de uma forma estéril, podem ser recolhidas para um tubo endotraqueal através de sucção para um recipiente vedado esterilizado. Esta técnica deve apenas ser utilizada por profissionais de saúde com uma boa formação.

Podem ser utilizadas armadilhas estéreis de amostras para recolher aspirados traqueais



Apenas pessoal qualificado deve recolher amostras de aspirados endotraqueais

Amostras de lavagem broncoalveolar: A lavagem broncoalveolar é um procedimento médico em que um broncoscópio passa pela boca ou nariz até aos pulmões e é inserido fluido numa pequena parte do pulmão, que depois é recolhido para ser examinado. Devido à natureza invasiva deste procedimento, apenas profissionais de saúde qualificados devem utilizá-lo para recolher amostras.



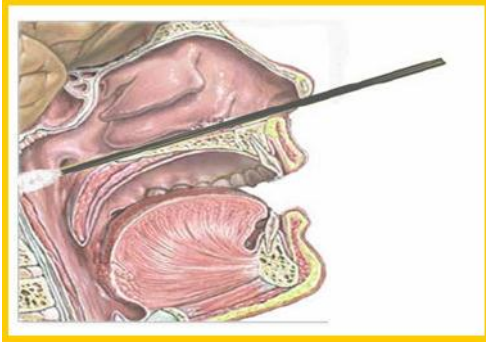
O procedimento de lavagem broncoalveolar é invasivo e apenas deve ser realizado por pessoal qualificado

Para os procedimentos de aspirado endotraqueal e lavagem broncoalveolar, devem ser recolhidas amostras de 2-3 ml para um copo de recolha de expectoração estéril, estanque, com tampa roscada ou para um recipiente seco e estéril.

Amostras das vias respiratórias superiores

Amostras de Suabs nasofaríngeos: Este procedimento envolve a inserção de um Swab ryon ou de poliéster seco na narina, de modo a chegar à nasofaringe. Deve ser utilizado um esfregaço com uma haste flexível; NÃO se pode utilizar um Swab rígido. O esfregaço deve ser introduzido directamente na narina, com a cabeça do doente inclinada ligeiramente para trás. O swab deve ser inserido a tocar na base da narina, avançando cerca de 5-6 cm pelo canal auditivo em adultos, de modo a que chegue à faringe posterior. Devem ser seguidos os seguintes passos, de modo a assegurar que a amostra recolhida é de boa qualidade:

- O swab deve permanecer no local durante uns segundos.
- O swab deve ser retirado lentamente, com uma ligeira rotação.
- A ponta do swab deve ser colocada num frasco contendo um meio de transporte de vírus e a haste do aplicador deve ser quebrada.
- Deve ser utilizado um segundo swab para a outra narina, sendo depois colocado noutra tubo. Isto poderá servir como uma segunda amostra para o doente.



Um swab nasofaríngeo deve ser inserido, de modo a chegar à nasofaringe

A amostragem nasofaríngea é um proceso invasivo que pode causar um desconforto considerável ao doente.

Como armazenar as amostras

As amostras das vias respiratórias inferiores, como a expectoração, aspirado endotraqueal e lavagem broncoalveolar devem ser colocadas num tubo de centrifugação sem um meio de transporte de vírus; no entanto, a ponta do swab nasofaríngeo deve ser colocada num meio de transporte de vírus.

As amostras tanto das vias respiratórias inferiores como das superiores devem ser armazenadas da seguinte forma, antes de serem transportadas para o laboratório:

- As amostras devem ser mantidas em gelo e transportadas para o laboratório o mais rápido possível.
- Para períodos de 24 horas ou menos, a maior parte das amostras pode ser mantida a 2-8°C em vez de serem congeladas;
- Se houver um atraso nos testes de mais de 24 horas, deve ser considerado o congelamento das amostras, através de gelo seco ou armazenando-as a -70 °C o mais rápido possível após a recolha.

Como embalar as amostras

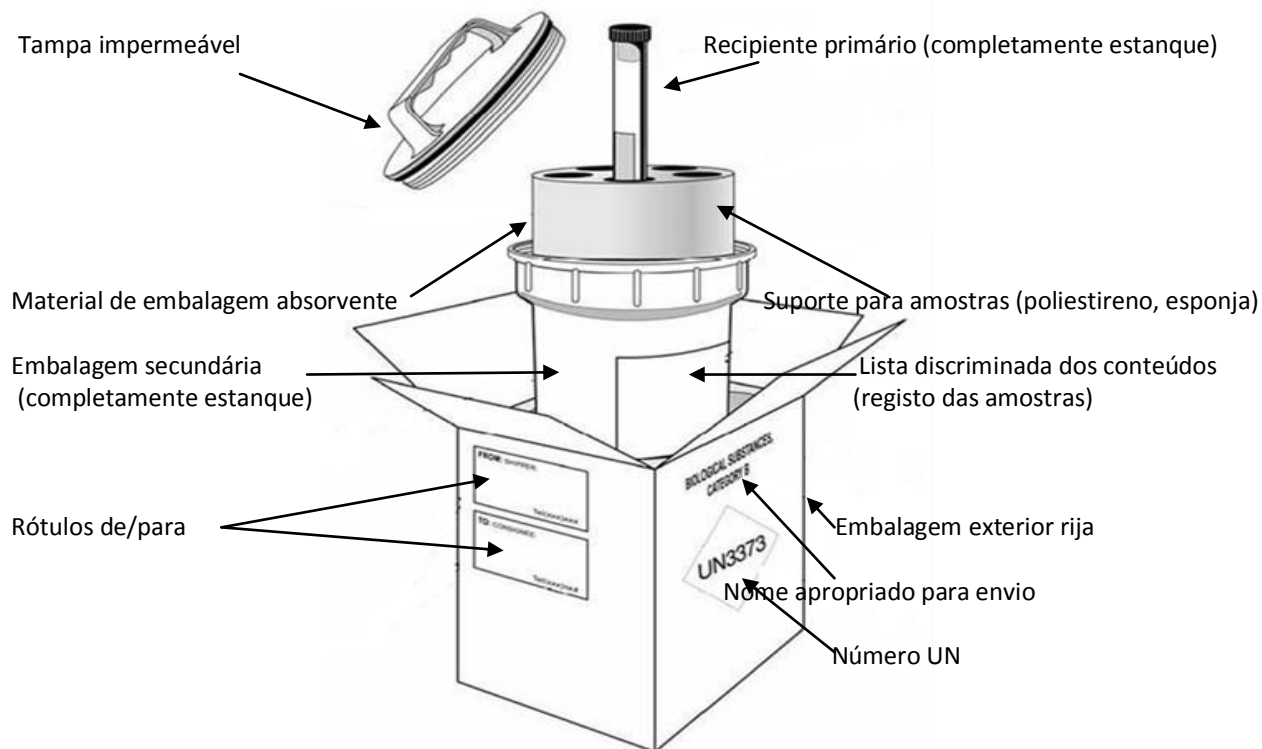
Para o material infeccioso é necessário uma embalagem tripla. Consiste em:

- Embalagem primária, que contém as amostras.
- Embalagem secundária, que pode ter a capacidade de guardar várias embalagens primárias.
- Embalagem exterior, que protege os recipientes interiores durante o transporte.

Ao serem embaladas, todas as amostras devem ser protegidas de quebras e derrames dos recipientes. Os recipientes das amostras devem ser estanques, assim como os recipientes secundários. O material absorvente deve ser suficiente para absorver todo o conteúdo do recipiente secundário, caso haja um derrame, e para separar os recipientes primários em caso de quebras. As amostras devem ser transportadas com pacotes frios ou quaisquer outros blocos refrigerantes independentes, nunca gelo molhado. Isto previne fugas e o aparecimento de um derrame. Quando são enviadas grandes quantidades de amostras, estas devem ser organizadas sequencialmente por número, em caixas com um compartimento separado para cada uma.

As instruções detalhadas de empacotamento para o transporte internacional de amostras infecciosas estão presentes nas *Orientações da OMS sobre o regulamento para o transporte de substâncias infecciosas 2013-2014* (aplicáveis desde 1 de Janeiro de 2013).

Com base no conhecimento actual, as características do MERS-CoV não justificam a classificação das suas amostras como substâncias infecciosas de Categoria A para propósitos de transporte. Por isso, e de acordo com os regulamentos internacionais de transporte aplicáveis, o conselho da OMS é que as amostras MERS-CoV possam ser transportadas em segurança como “Substâncias Biológicas, Categoria B”, atribuídas à UN 3373.



As amostras MERS-CoV podem ser transportadas nas embalagens utilizadas para os materiais biológicos de Categoria B. (Instruções de empacotamento 650 (PI650)).

Notas importantes a reter:

- Não colocar gelo seco, envelopes espuma, sacos Ziploc, caixas de tubos criogénicos ou recipientes hermeticamente selados nas embalagens primárias ou secundárias.
- Não colocar a embalagem primária de lado ou de cabeça para baixo nos sacos Ziploc.
- Não colocar papéis na embalagem secundária ou nos sacos Ziploc, onde podem ficar danificados.
- Não utilizar sacos biológicos ou de autoclave para pré-embalar os materiais, pois a sua vedação é inadequada.

Como transportar as amostras

O transporte de amostras dentro das fronteiras nacionais deve seguir os regulamentos nacionais aplicáveis. O transporte internacional de amostras de novos coronavírus deve seguir os regulamentos internacionais aplicáveis, tal como está descrito nas *Orientações da OMS sobre o regulamento para o transporte de substâncias infecciosas 2013-2014* (aplicáveis desde 1 de Janeiro de 2013), disponível em http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_20100801/en/index.html. Os expedidores devem estar cientes que as companhias aéreas individuais podem ter políticas mais severas que os regulamentos de transporte internacional.

É recomendado a utilização de materiais de empacotamento produzidos comercialmente, caso as amostras sejam enviadas para fora do país. É fundamental a manutenção da temperatura apropriada durante o transporte. Quando o tempo entre a recolha da amostra e a chegada ao laboratório pode ser superior a 24 horas, as amostras devem ser congeladas e enviadas com uma combinação de gelo seco e pacotes de gel congelado. Os pacotes de gel congelado irão manter-se congelados durante um ou dois dias após o gelo seco ter desaparecido.

Os serviços de diagnóstico para o MERS-CoV nem sempre estão disponíveis em todos os países. Se as amostras vão ser enviadas internacionalmente, é fundamental ter a confirmação do laboratório receptor antes do envio, de modo a que o laboratório possa solicitar licenças de importação e possa estar pronto a realizar as análises o mais rápido possível após a recepção das amostras. Caso seja necessário, a OMS irá ajudar os países a contactar um laboratório de referência.

Referências

- CDC. Orientações provisórias para a recolha, processamento e transporte de amostras clínicas de doentes sob investigação para a síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS): <http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/downloads/Interim-Guidelines-MERS-Collection-Processing-Transport.pdf>
- OMS. Infecções por coronavírus: http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/en/
- OMS. Orientações sobre o regulamento para o transporte de substâncias infecciosas 2013-2014 (aplicáveis desde 1 de Janeiro de 2013): http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_20100801/en/. 2012.
- OMS. Orientações para a recolha de amostras clínicas no campo durante investigações de surtos. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4
- OMS. Testes de laboratório para novos coronavírus. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/LaboratoryTestingNovelCoronavirus_21Dec12.pdf. 2012.
- OMS. Resumo das actualizações do MERS-CoV. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/archive_updates/en/index.html
- OMS. Revisão da definição provisória de casos para notificação à OMS – Coronavírus da síndrome respiratória do Médio Oriente (MERS-CoV). http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/index.html
- OMS e CDC. Orientações técnicas para a vigilância e resposta integrada às doenças na Região Africana, 2ª ed. 2001.