

PROTOCOLO LABORATORIAL PARA A COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA INVESTIGAÇÃO DE COVID-19

Versão - 26/02/2020

Objetivo:

Orientar a realização de coleta, acondicionamento/conservação e transporte de amostras biológicas, com vistas ao diagnóstico laboratorial de COVID-19

Orientações gerais:

- Certificar-se de que o paciente atende à definição de caso suspeito de COVID-19;
- É necessário a coleta de amostras respiratórias em 1 tubo/frasco por paciente, *swab* combinado (nasal/oral) **OU** aspirado de nasofaringe (ANF) **OU** amostra de secreção respiratória inferior (escarro ou lavado traqueal ou lavado bronco-alveolar);
- A amostra deverá ser encaminhada com urgência para o Instituto Adolfo Lutz Central ou Regional. Será analisada por PCR em tempo real e por sequenciamento, consultar Anexo I (Fluxograma de encaminhamento de amostra);
- As amostras de casos suspeitos de COVID-19 devem ser acompanhadas da Ficha de Notificação para casos suspeitos (REDCap) e cadastradas no Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). Orientação para cadastro no GAL:
 - **Finalidade:** Investigação **Descrição:** COVID-19
 - **Agravo/doença:** COVID-19
 - **Nova pesquisa:** COVID-19
- Utilizar os Equipamentos de Proteção Individual (EPIs): avental descartável, luva descartável, óculos de proteção, máscara N95. Identificar os tubos ou frasco coletor com o nome legível e dados do paciente;
- Certificar-se de que o nome completo do paciente, idade, sexo, profissão, procedência, data do início dos sintomas; data da coleta das amostras, histórico de viagem recente para áreas de risco estejam devidamente informados;

Técnicas para a coleta, acondicionamento e transporte das amostras biológicas preconizadas para o diagnóstico.

1. *Swabs* combinados (nasofaringe e orofaringe):

As secreções serão coletadas utilizando-se *swabs* de rayon de haste flexível. Não utilizar *swabs* contendo alginato e *swabs* com haste de madeira, pois estes materiais contêm substâncias que inativam os vírus e inibem a reação de PCR em tempo real;

Total de *swabs* utilizados = três *swabs*:

1. Narina direita;
2. Narina esquerda;
3. Orofaringe

Procedimentos para a coleta dos *swabs*

Introduzir o *swab* pela narina até a nasofaringe realizar movimentos rotatórios para captação de células da nasofaringe, e absorção da secreção respiratória. Realizar o mesmo procedimento em ambas as narinas (Figura 1A);

O terceiro *swab* será utilizado na coleta de secreção respiratória da parte posterior da orofaringe evitando contato com a língua para minimizar contaminação (Figura 1B);



A – Swab nasal.

B – Swab oral.

Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. 2016.

Figura 1: Técnica para a coleta de *swab* combinado.

IMPORTANTE: Os três *swabs* **DEVERÃO** ser acondicionados em um único tubo de rosca estéril tipo Falcon, contendo três mL de soro fisiológico estéril e transportados na posição vertical para garantir que o *swab* fique imerso na solução fisiológica.

Enviar imediatamente o material até o Laboratório acondicionado em gelo ou gelox. Frente à impossibilidade desta logística poderão ser armazenadas até 72 horas de (+)4 a (+)8°C. Encaminhar para o Laboratório acondicionado em banho de gelo ou gelox. Em situações de encaminhamento

para outras cidades ou estados congelar em temperaturas abaixo de (-)70°C após a coleta e encaminhar ao Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar **ANEXO II**.

Tipos de *Swabs* utilizados para a obtenção de secreções respiratórias, consultar **ANEXO III**.

Serão consideradas amostras inadequadas para investigação:

Swabs acondicionados em tubos secos, não contendo os três mL de soro fisiológico estéril que é utilizado como o meio de transporte para a preservação da infectividade do agente viral;

Swabs contendo alginato e *swabs* com haste de madeira, pois estes materiais contêm substâncias que inibem a reação de PCR em tempo real.

2. Aspirado da Nasofaringe:

No caso de secreções espessas recomenda-se proceder à nebulização ou instilação com gotas de solução fisiológica estéril 0,9%, (em ambas as narinas) a fim de promover a fluidez do muco, facilitando a aspiração (Figura 2);

Enviar imediatamente o material até o Laboratório acondicionado em gelo ou gelox. Frente à impossibilidade desta logística poderão ser armazenadas até 72 horas de (+)4 a (+)8°C. Encaminhar para o Laboratório acondicionado em banho de gelo ou gelox. Em situações de encaminhamento para outras cidades ou estados congelar em temperaturas abaixo de (-)70°C após a coleta e encaminhar ao Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar **ANEXO II**.



Fonte: BRASIL. Ministério da Saúde. Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza no Brasil. 2016.
Figura 2: Ilustração da técnica para a coleta de aspirado nasofaríngeo.

OBS.1: Aspirados de nasofaringe não devem ser coletados de bebês e crianças após a amamentação devido à possibilidade de refluxo.

OBS.2: Para utilização de balão de nitrogênio líquido, transferir o material do coletor “bronquinho” para tubo criogênico. **NÃO COLOCAR O COLETOR NO BALÃO DE NITROGÊNIO LÍQUIDO.**

Tipos de coletores utilizados para a obtenção do aspirado da nasofaringe, consultar **ANEXO III**.



IMPORTANTE: *Secreções respiratórias enviadas ao laboratório no interior da sonda utilizada para a aspiração, não serão processadas em função do risco de contaminação operacional.*

3. Lavado bronco alveolar (amostra do trato respiratório inferior):

Coletar 2 a 3 mL de secreções respiratórias em coletor estéril; armazenar a (+)4 a (+)8°C, caso o transporte da amostra até o Laboratório ocorra no prazo de até 72 horas;

Enviar imediatamente o material até o Laboratório acondicionado em gelo ou gelox. Frente à impossibilidade desta logística poderão ser armazenadas até 72 horas a (+)4 a (+)8°C. Encaminhar para o Laboratório acondicionado em banho de gelo ou gelox. Em situações de encaminhamento para outras cidades ou estados congelar em temperaturas abaixo de (-)70°C após a coleta e encaminhar ao Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar **ANEXO II**.

OBS.1: Para utilização de balão de nitrogênio líquido, transferir o material do coletor “bronquinho” para tubo criogênico. **NÃO COLOCAR O COLETOR NO BALÃO DE NITROGÊNIO LÍQUIDO.**

4. Fragmento de tecidos (material *post-mortem*):

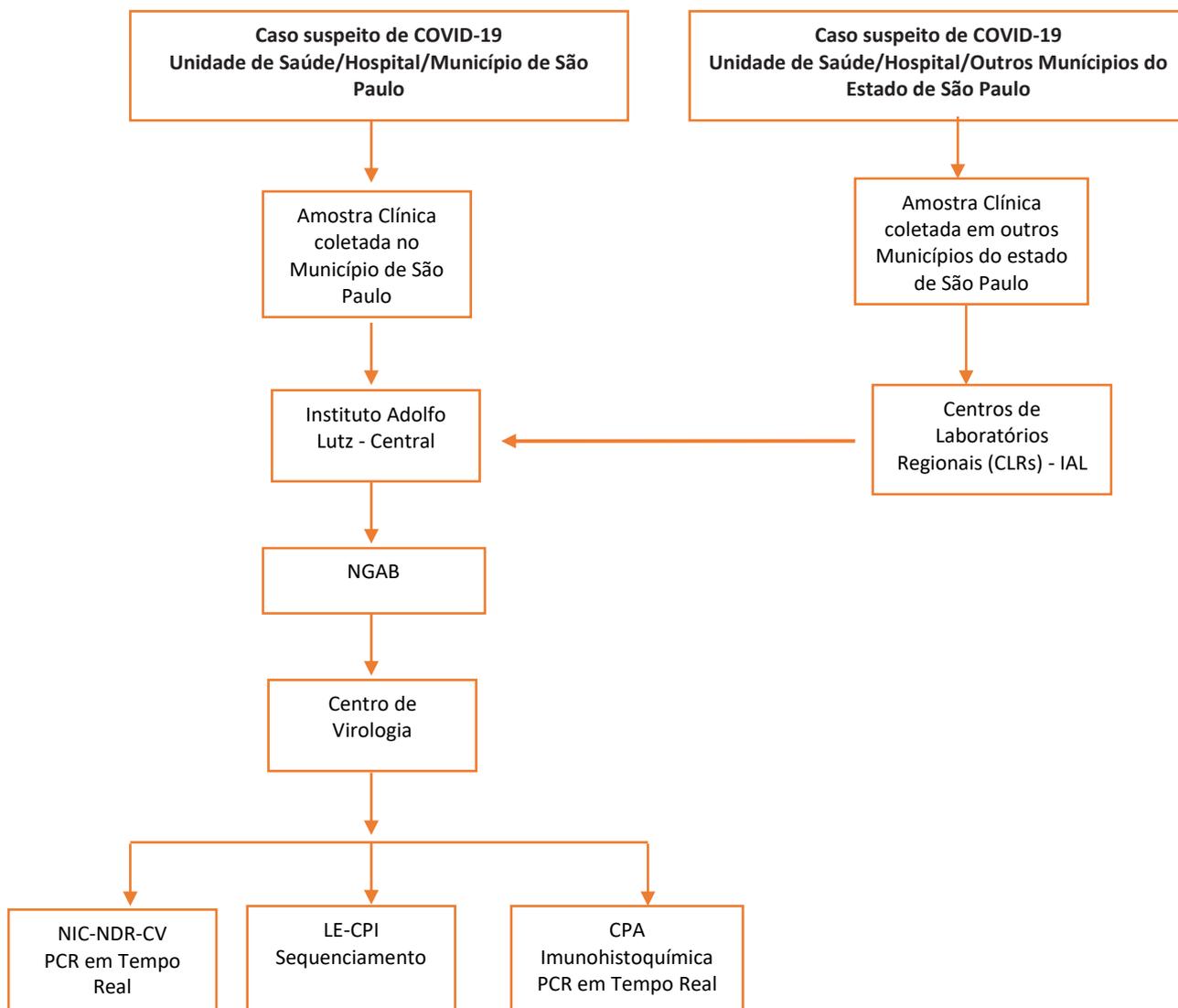
Para diagnóstico viral: Fragmento de pulmão e brônquios “in natura” acondicionado em frasco plástico estéril;

Enviar imediatamente o material até o Laboratório acondicionado em gelo ou gelox. Frente à impossibilidade desta logística poderão ser armazenadas até 72 horas de (+)4 a (+)8°C. Encaminhar para o Laboratório acondicionado em banho de gelo ou gelox. Em situações de encaminhamento para outras cidades ou estados congelar em temperaturas abaixo de (-)70°C após a coleta e encaminhar ao Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar **ANEXO II**.

Para diagnóstico histopatológico: Fragmento de pulmão e brônquios acondicionados em frasco de boca larga (coletor universal) com formalina tamponada a 10%. Enviar ao laboratório em temperatura ambiente não superior a (+)40°C.

ANEXO I

FLUXOGRAMA DE ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS



Siglas:

NGAB: Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas

CV: Centro de Virologia

NIC-NDR: Centro Nacional de Influenza-Núcleo de Doenças Respiratórias

LE-CPI: Laboratório Estratégico-Centro de Procedimentos Interdisciplinares

CPA: Centro de Patologia



ANEXO II

- A embalagem para o transporte de amostras de casos suspeitos de COVID-19 deve seguir os regulamentos de remessa para Substância Biológica UN 3373, Categoria B. As amostras deverão ser transportadas em caixas isotérmicas individuais, separadas de outros agravos, em temperatura de (+)4 a (+)8°C;
- **JAMAIS** utilizar frascos de vidro ou de polipropileno sem tampa de rosca para o armazenamento e transporte da amostra biológica;
- **JAMAIS** inserir a identificação na haste do *swab* para evitar a contaminação do material;
- Os frascos deverão ser acondicionados e transportados na posição vertical;
- Não acondicionar a ficha com os dados do paciente no interior da caixa isotérmica, contendo a amostra biológica coletada;
- Em caso de transporte utilizando o nitrogênio líquido o **único** frasco permitido é o de polipropileno **com tampa de rosca**;
- Realizar criteriosamente todos os procedimentos quanto à coleta, acondicionamento e transporte do material para evitar fontes de contaminação, por exemplo, aerossóis;
- Certificar-se de que no local da coleta do material haverá descartes apropriados, água e sabão para a lavagem das mãos, regra básica para o controle de infecção, seguindo as boas práticas laboratoriais para coleta de material potencialmente infectante.

ANEXO III

Swabs disponíveis no mercado

- **Sterilin – haste flexível**
- **Swab de rayon(Rayswab) – Inlab Diagnóstica**
- **microRheologics – optimize diagnostics**
www.copanitalia.com



IAL

Coletor de aspirado da nasofaringe “Bronquinho”



IAL

Coletor de aspirado da nasofaringe

Argile – Sherwood – coletor McGrif para coleta de secreções da nasofaringe com interrupção de vácuo manual. Ref. 523706

- www.superavite.com



IAL



Responsáveis Técnicos pela elaboração do protocolo: Núcleo de Doenças Respiratórias/ Centro de Virologia/Instituto Adolfo Lutz.

Terezinha Maria de Paiva – Responsável pelo Centro Nacional de Influenza (NIC), Núcleo de Doenças Respiratórias - terezinha.paiva@ial.sp.gov.br

Ana Maria Sardinha Afonso – Diretora Núcleo de Doenças Respiratórias – ana.afonso@ial.sp.gov.br

Rita de Cassia Compagnoli Carmona - Substituta Direção do Centro de Virologia, Instituto Adolfo Lutz - rita.carmona@ial.sp.gov.br

Maria do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky. Diretora Técnica do Centro de Virologia - virologia@ial.sp.gov.br, maria.timenetsky@ial.sp.gov.br

Sonia Maria Miranda Pereira – Diretora Técnica do Centro de Patologia – patologia@ial.sp.gov.br

Adriana Bugno - Diretora Substituta Direção Geral Instituto Adolfo Lutz - adriana.bugno@ial.sp.gov.br