

# DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA INFECÇÃO PELO NOVO CORONAVÍRUS (COVID-19) – POSICIONAMENTO OFICIAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML)

João Renato Rebelo Pinho<sup>(1)</sup>, Annelise Corrêa Wengerkievicz Lopes<sup>(2)</sup>, Luisane Maria Falci Vieira<sup>(3)</sup>, Carlos Eduardo dos Santos Ferreira<sup>(4)</sup>

(1) Médico Patologista Clínico, Coordenador do Comitê de Diagnóstico Molecular da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial.

(2) Médica Patologista Clínica, Diretora de Comunicação e Marketing da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (biênio 2020-2021).

(3) Médica Patologista Clínica, Membro do Comitê de Diagnóstico Molecular da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial.

(4) Médico Patologista Clínico, Presidente da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (biênio 2020-2021).

## 1. Introdução

Em janeiro de 2020, foi identificada na China uma nova cepa de coronavírus, formalmente designada coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV2), causadora da doença denominada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como COVID-19.

Em 30 de janeiro do mesmo ano, a OMS declarou que o surto do novo coronavírus constitui uma Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional.

Os coronavírus são a segunda causa mais frequente de resfriado comum e até alguns anos atrás não eram implicados em síndromes clínicas mais graves. Os coronavírus comuns que infectam os seres humanos são os alpha coronavírus 229E e NL63 e os beta coronavírus OC43 e HKU1. Alguns tipos de coronavírus, contudo, foram relacionados a síndromes respiratórias graves: SARS-COV (que causa a síndrome respiratória aguda grave), MERS-COV (síndrome respiratória do Oriente Médio), e o recém identificado SARS-CoV2.

Este posicionamento visa orientar os profissionais de saúde quanto às práticas recomendadas para o diagnóstico laboratorial do SARS-CoV2, incluindo aspectos de coleta de amostras e biossegurança no transporte e manuseio de amostras clínicas que possam conter o SARS-CoV2. O conhecimento sobre a doença vem evoluindo, de forma que estas recomendações se baseiam nos dados de literatura atuais e poderão sofrer modificações.

## 2. Definição de Caso Suspeito

O Ministério da Saúde define como Caso Suspeito para COVID-19:

- a) Pacientes com febre **e** pelo menos um sinal ou sintoma respiratório (tosse, dificuldade para respirar, batimento das asas nasais, entre outros), **mais qualquer um dos seguintes critérios:**
- b) Histórico de viagem para países com transmissão local nos 14 dias anteriores ao aparecimento dos sinais ou sintomas; **ou**
- c) contato próximo com caso suspeito para COVID-19 nos 14 dias anteriores ao aparecimento dos sinais ou sintomas; **ou**
- d) contato próximo com caso confirmado de COVID-19 por meio de exame laboratorial, nos 14 dias anteriores ao aparecimento dos sinais ou sintomas.

## 3. Definição de Contato Próximo

**Contato próximo** com uma pessoa com suspeita ou confirmação para coronavírus (SARS-CoV2) é definido como:

- a) estar a menos de 2 metros ou compartilhando a mesma sala ou área de atendimento por um período prolongado, enquanto não estiver usando equipamentos de proteção individual. O contato próximo pode incluir cuidar, morar, visitar, trabalhar ou compartilhar uma área ou sala de espera; ou
- b) ter contato direto com secreções contaminadas sem o uso de equipamentos de proteção individual recomendados.

## 4. Fluxo de recepção e identificação precoce de pacientes com suspeita de COVID-19 em serviços de coleta laboratorial

Recomenda-se que os laboratórios criem fluxos para identificação precoce de pacientes com sintomas respiratórios ou com requisição de exames que inclua solicitação de coleta de amostra para pesquisa de SARS-CoV2, com processos bem definidos para atendimento ou encaminhamento a outros serviços. Recomenda-se minimizar o tempo que o paciente permanece na unidade laboratorial, principalmente em contato próximo com demais pacientes, sendo aconselhável a criação de fluxos preferenciais para acionamento imediato da

equipe assistencial, condução a áreas reservadas (idealmente box privativo fechado), ou ainda a disponibilização de coleta em domicílio.

Para os sintomáticos respiratórios, é recomendada, durante a permanência na unidade, a utilização da máscara cirúrgica pelo paciente e por seu(s) acompanhantes(s). Enfatizar a importância do uso de lenços descartáveis ao espirrar e tossir, bem como da higiene frequente das mãos com álcool gel ou lavagem das mãos com água e sabão. Aconselha-se a disponibilização deste material em local de fácil acesso aos pacientes, bem como de lixeiras para lixo comum com acionamento por pedal para descarte de lenços e máscaras já utilizados pelos pacientes.

São de extrema importância a avaliação médica de sinais de gravidade e a notificação compulsória do caso suspeito, razão pela qual sugere-se que a investigação laboratorial do COVID-19 somente ocorra mediante pedido médico. Incentivamos que os serviços médicos e laboratoriais comuniquem prontamente o serviço referenciado, quando do encaminhamento de casos suspeitos para COVID-19.

## **5. Investigação laboratorial de infecção respiratória associada ao SARS-CoV2**

O teste recomendado para o diagnóstico da infecção por SARS-CoV2 é a reação da polimerase em cadeia com transcrição reversa em tempo real (rRT-PCR) em amostras clínicas respiratórias de trato superior ou inferior. O exame está disponível em laboratórios da rede pública e em alguns da rede privada. Para realização do teste, é recomendada a coleta de swab combinado de nasofaringe e orofaringe ou de secreção de trato respiratório inferior.

Outros patógenos respiratórios devem ser pesquisados na avaliação clínica inicial, sendo de grande valia a aplicação de painéis moleculares para patógenos respiratórios, que quando positivos permitem atribuir a síndrome clínica a outro agente etiológico, descartando a infecção por SARS-CoV2. Esta recomendação pode ser modificada de acordo com o conhecimento do papel de coinfeções envolvendo o SARS-CoV2.

## 6. Procedimento de coleta de swab de nasofaringe e orofaringe

O CDC recomenda a coleta e a testagem simultânea de amostras de trato respiratório superior (swabs de nasofaringe E orofaringe) para todos os casos e amostra de trato respiratório inferior (escarro, quando possível), no caso de pacientes com tosse produtiva. A indução de escarro não é recomendada.

A coleta da amostra deve ser realizada o mais prontamente possível após a identificação da suspeita clínica, independentemente do tempo desde o início dos sintomas.

Utilizar swabs de material compatível com diagnóstico molecular. Swabs de alginato de cálcio e de madeira podem inativar vírus e inibir reação de PCR, portanto não devem ser utilizados.

As instruções de coleta e materiais clínicos indicados podem variar ligeiramente entre os laboratórios, portanto é importante verificar e obedecer as instruções de coleta do laboratório realizante.

### 6.1 Coleta de swabs de trato respiratório superior

Primeiramente, pedir ao paciente para assoar o nariz em um lenço descartável de modo a eliminar o excesso de pus e muco e desprezar em lixeira própria para resíduo infectante.

Swab de Nasofaringe: Inserir o swab em uma das narinas, paralelamente ao palato. Deixar o swab no local por alguns instantes para absorver as secreções. Repetir o procedimento na outra narina.

Swab de Orofaringe: Coletar material da orofaringe posterior, evitando a base da língua, os dentes e as bochechas.

Inserir os swabs imediatamente (se necessário, cortar o excesso dos cabos) após a coleta em 2-3mL de solução fisiológica a 0,9% estéril ou meio de transporte universal viral (UTM) e manter imediatamente sob refrigeração (2 a 8°C).

### 6.2 Coleta de amostra de trato respiratório inferior

Lavado broncoalveolar, aspirado traqueal – seguir intruções de coleta da instituição. Coletar 2 a 3 mL em um frasco estéril, estanque e com tampa de rosca. Manter sob refrigeração (2 a 8°C).

Escarro - O paciente deve enxaguar a boca com água, forçar uma tosse profunda com expectoração diretamente dentro do recipiente estéril de boca larga e tampa de rosca, próprio para coleta de escarro. Manter sob refrigeração (2 a 8°C)

**Atenção:** No caso de laboratórios privados, devem-se coletar amostras adicionais para envio ao Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN).

## 7. Precaução padrão, de contato e respiratória para coleta de material respiratório

A utilização dos EPIs recomendados garante a segurança do profissional de saúde no atendimento de casos suspeitos ou confirmados de COVID-19.

Devem ser utilizados para a coleta avental descartável, luvas, máscara N95 e óculos de proteção.

Acompanhantes não devem permanecer na sala no momento da coleta.

O Laboratório deve ter uma política para colocação, uso e retirada dos EPIs. A colocação e retirada deverão ser realizadas na seguinte ordem para minimizar o risco de exposição:

### 7.1. Colocação dos EPIs (antes de adentrar a sala de coleta):

**Primeiro passo:** Vestir o avental descartável de mangas longas. Trocar se houver contaminação durante a coleta.

**Segundo passo:** Colocar a máscara N95/PFFE.

**Terceiro passo:** Colocar os óculos ou o escudo de proteção.

**Quarto passo:** Calçar as luvas, após a lavagem ou higienização das mãos, e ajustar sobre os punhos. Trocar se houver contaminação.

### 7.2. Retirada dos EPIs (antes de deixar a sala de coleta, exceto a máscara):

**Primeiro passo:** Retirar as luvas de forma a não contaminar as mãos com a parte exterior.

**Segundo passo:** Retirar os óculos ou escudo e lavar ou higienizar imediatamente as mãos.

**Terceiro passo:** Retirar o avental tentando não tocar na parte frontal. Se isso ocorrer, lavar ou higienizar as mãos.

**Quarto passo:** Retirar a máscara por trás, evitando tocar a região frontal, somente após deixar a sala de coleta.

Lavar as mãos com água e sabão ou higienizá-las com álcool-gel.

Descartar o material usado em recipiente de descarte de lixo infectante.

Nota: A **máscara** conhecida como respirador **N95** refere-se a uma classificação de filtro para aerossóis adotada nos EUA que equivale, no Brasil, à **PPF2 ou** ao EPR semifacial com filtro P2 — todos com níveis de proteção e resistência equivalentes. A máscara N95 deve ser posicionada antes de entrar no box de coleta, e retirada após sair do box.

## 8. Recomendações gerais para manipulação de material potencialmente infectante em ambiente laboratorial

Quaisquer procedimentos com potencial de geração de aerossóis (por exemplo, o preparo de amostras com frasco aberto, e uso de vórtex) devem ser realizados dentro de cabine de segurança biológica certificada de Classe II. Idealmente as caçapas das centrífugas devem ser abastecidas e desabastecidas dentro da cabine de segurança biológica, e devem ser usadas centrífugas apropriadas com rotores tampados. Qualquer procedimento que gere aerossol e seja realizado fora de cabine de segurança, bem como limpeza de material clínico altamente suspeito, deve ser feito com a utilização de máscara N95 ou equivalente.

Após o processamento das amostras, as superfícies e equipamentos devem ser descontaminados com desinfetantes apropriados (vide item 10).

Segundo diretrizes do Centro de Controle de Doenças (CDC), os seguintes procedimentos podem ser realizados em área técnica com nível 2 de biossegurança:

- Análise patológica de amostras fixadas em formalina ou inativadas;
- Aplicação em placa de PCR de ácidos nucleicos extraídos;
- Microscopia eletrônica em lâminas fixadas por glutaraldeído;
- Análise visual de rotina de culturas para fungos e bactérias;
- Coloração e microscopia de rotina de amostras fixadas;
- Embalagem final de espécimes para transporte para outros laboratórios para testes adicionais (já devem estar em embalagem primária vedada);
- Amostras inativadas.

Os seguintes procedimentos devem ser realizados em cabine de segurança biológica classe II:

- Aliquotagem/diluição de amostras;
- Semeadura em meios de cultura para fungos ou bactérias;
- Realização de testes diagnósticos que não envolvam a propagação de agentes virais *in vitro* ou *in vivo* (por exemplo, preparação de lâminas para imunofluorescência);
- Extração de ácidos nucleicos a partir de amostras potencialmente infectantes;
- Preparação e fixação química ou pelo calor de amostras para análise microscópica.

## 9. Transporte de amostras biológicas

A embalagem e o transporte das amostras biológicas que possam conter o SARS-CoV2 devem seguir as recomendações da legislação vigente (atualmente, a RDC Nº 20, de 10 de abril de 2014, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária, para Substância Biológica Categoria B).

As instruções de estabilidade de amostra e temperatura de acondicionamento devem seguir as orientações do laboratório realizante.

## 10. Limpeza e desinfecção de superfícies

Em períodos de maior circulação de vírus respiratórios, recomenda-se a intensificação da limpeza de superfícies e objetos de uso frequente do público, como maçanetas e botões de elevadores.

Evidências da literatura a respeito dos agentes SARS-CoV e MERS-Cov demonstram que os coronavírus humanos podem permanecer infectantes em superfícies inanimadas por até 9 dias. A desinfecção de superfícies com hipoclorito de sódio a 0,1% ou etanol 62-70% reduz significativamente e infectividade dos coronavírus após 1 minuto de exposição.

## Referências Bibliográficas

- 1) CDC (Center for Disease Control) - Interim Infection Prevention and Control Recommendations for Patients with Confirmed Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) or Persons Under Investigation for COVID-19 in Healthcare Settings. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/infection-control/control-recommendations.html>. Acessado em 28/02/2020.
- 2) Pan American Health Organization. Interim laboratory biosafety guidelines for the handling and transport of samples associated with the novel coronavirus 2019 (2019-nCoV). <https://www.paho.org/en/documents/interim-laboratory-biosafety-guidelines-handling-and-transport-samples-associated-novel> Acessado em 28/02/2020.
- 3) Ministério da Saúde. Protocolo de Tratamento do Novo Coronavírus. <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2020/fevereiro/05/Protocolo-de-manejo-clinico-para-o-novo-coronavirus-2019-ncov.pdf> Acessado em 28/02/2020.
- 4) Kampf G, Todt D, et al. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. J Hosp Infect. 2020; Feb 6. pii: S0195-6701(20)30046-3.
- 5) Brasil. Ministério da Saúde. Resolução RDC 20 de 10 de abril de 2014 - Dispõe sobre regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano.