

MANIPULAÇÃO DAS AMOSTRAS CLÍNICAS NO LABORATÓRIO

O conhecimento sobre o potencial patogênico e os riscos de transmissão do novo coronavírus ainda é muito limitado. Vários documentos trouxeram orientações **provisórias** com o objetivo de minimizar os riscos para a equipe de laboratório que manipula amostras de pacientes com suspeita ou confirmação da COVID-19.

Até que mais informações sejam disponibilizadas, precauções devem ser tomadas no manuseio de amostras suspeitas ou confirmadas coronavírus.

A comunicação oportuna entre a equipe clínica e o laboratório é essencial para minimizar o risco no manuseio de amostras de pacientes com possível infecção por COVID-19.

RECOMENDAÇÕES PARA MANIPULAÇÃO DAS AMOSTRAS CLÍNICAS ASSOCIADAS AO SARS-COV-2/COVID-19

1. Equipamento de proteção individual (EPI)

A equipe do laboratório deve usar EPIs incluindo luvas descartáveis, máscara N95, jaleco e proteção dos olhos quando manusear amostras potencialmente infecciosas. O EPI deve ser removido ao sair do laboratório e as práticas de higiene, incluindo a lavagem das mãos, devem ser rigorosamente mantidas. São recomendadas boas práticas de laboratório para qualquer tipo de amostra.

2. Níveis de biossegurança laboratorial

Trabalho laboratorial de diagnóstico não propagativo (exame patológico e processamento de tecidos fixados em formalina ou inativado; análise de esfregaços em lâmina já fixadas e análise molecular de amostras inativadas) podem ser realizadas em instalações de biossegurança nível 2 (NB-2). Os procedimentos com alta probabilidade de gerar gotículas, respingos ou aerossóis devem ser realizados em cabines de segurança biológica, tipo II.

A centrifugação de amostras com potencial infeccioso deve ser feita usando rotores selados ou tubos fechados que devem ser carregados e descarregados com as amostras dentro de uma cabine de segurança.

Trabalho laboratorial de possível propagação (cultura de vírus, ensaios de isolamento ou neutralização) devem ser realizados em instalações de biossegurança nível 3 (NB-3). **Neste momento ativo da pandemia, esses procedimentos NÃO são recomendados.**

3. Gerenciamento de resíduos

O manuseio dos resíduos de laboratório de amostras de pacientes suspeitos e/ou confirmados de SARS-CoV-2/COVID-19 deve seguir os procedimentos já estabelecidos para outros resíduos de risco biológico. Atualmente, não há evidências que os resíduos

relacionados ao SARS-CoV-2/COVID-19 demandam procedimentos adicionais de embalagem ou desinfecção.

4. Limpeza das superfícies

As superfícies externas dos recipientes e frascos de amostras de pacientes suspeitos ou confirmados de SARS-CoV-2/COVID-19 devem ser descontaminadas usando um desinfetante com atividade comprovada contra vírus envelopado. A desinfecção deve ser realizada após a manipulação das amostras em cabines de segurança biológica. Deve-se tomar cuidado para evitar a contaminação acidental das superfícies externas.

As **superfícies de trabalho** e os equipamentos devem ser descontaminados após o processamento das amostras. Atente-se a todas as superfícies que possam ter entrado em contato com amostras ou recipientes de amostras.

- ❖ Use soluções como hipoclorito/água sanitária (0,1% para limpeza geral de superfícies e 1% para desinfecção quando há derrame de sangue ou outra amostra biológica - *Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19)*), álcool 70° INPM, peróxido de hidrogênio (0,5%), compostos quaternário de amônio e compostos fenólicos. Atente-se não apenas a seleção do desinfetante, mas também o tempo de contato, diluição e prazo de validade.

5. Higiene das mãos

Realizar a higiene das mãos antes e depois de todo contato com material potencialmente infeccioso e antes de colocar e remover o EPI, incluindo luvas. A higiene das mãos após a remoção do EPI é particularmente importante para remover quaisquer patógenos que possam ter sido transferidos para as mãos durante o processo de remoção.

6. Armazenamento e transporte das amostras

Todos os materiais transportados dentro e entre laboratórios devem ser colocados em um recipiente secundário para minimizar o potencial de quebra ou derramamento. Recomenda-se desembalar as amostras recebidas dentro das cabines de segurança biológica. Para o envio/transporte das amostras de COVID-19 (pacientes suspeitos ou confirmados), deve ser indicado na embalagem a sigla UN3373 (Substância Biológica, Categoria B) quando transportados para diagnóstico ou fins de investigação.

- ❖ **Culturas virais ou isolados devem ter em suas embalagens a indicação da sigla UN2814 (Substância Infecciosa, Categoria A).**

7. INATIVAÇÃO DO VÍRUS EM AMOSTRAS

Segundo a revisão publicada por Kampf e colaboradores 2020 ([https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(20\)30046-3/pdf](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(20)30046-3/pdf)) alguns reagentes químicos, disponíveis na maioria dos laboratórios, poderiam ser utilizados na inativação do coronavírus com rapidez e eficiência (redução de 4 log₁₀ ou mais). Os autores encontraram informações de vários coronavírus e outras famílias relacionadas. Embora

não tenha sido realizado especificamente com o SARS-CoV-2, os autores sugerem o mesmo comportamento, uma vez que estruturalmente esses vírus são equivalentes.

REAGENTE	CONCENTRAÇÃO	TEMPO DE INATIVAÇÃO
ETANOL	78 – 95°	30 segundos
2-PROPANOL	70 – 100°	30 segundos
GLUTARALDEÍDO	0,5 - 2,5%	5 minutos
FORMALDEÍDO	0,7 -1%	2 minutos

Além deste estudo o ministério da saúde de Singapura também disponibilizou informações sobre os meios de inativação: **por calor** (60°C) e **química** (acetona, formaldeído, glutaraldeído, trizol, Triton X e Tween 80). Há uma importante informação que a presença de certas substâncias, como as proteínas nas amostras, pode afetar o processo de inativação. (https://www.moh.gov.sg/docs/librariesprovider7/news-updates-documents/faq_covid19_final_21feb20.pdf)

CONCEITOS IMPORTANTES:

Níveis de biossegurança laboratorial

NB-1 (Nível de Biossegurança 1) - É destinado a manipulação de agentes biológicos de baixo ou nenhum risco patogênico. Não há indicação de barreiras, com exceção de pia para higienização das mãos. O trabalho é realizado em bancadas usando práticas microbiológicas padrão.

NB-2 (Nível de Biossegurança 2) - É destinado a manipulação de agentes biológicos que oferecem moderado risco de infecção. Os procedimentos são realizados em cabines de segurança biológica I ou II. O risco biológico deve ser informado nas portas dos laboratórios e o acesso é restrito. O Uso de EPI's são essenciais. Barreiras (pias para higienização das mãos e instalações para descontaminação do lixo) devem existir para reduzir contaminação do meio ambiente.

NB-3 (Nível de Biossegurança 3) - É destinado à manipulação de agentes com capacidade de transmissão por via respiratória e que causam doenças que podem ser letais. Além da cobertura referente aos níveis de biossegurança 1 e 2, é mais eficiente nas barreiras primárias e secundárias para proteção contra a exposição aos aerossóis potencialmente infecciosos. Todas as manipulações laboratoriais deverão ser realizadas em uma cabine de segurança biológica. Deve haver uma sala (antecâmara) para paramentação dos trabalhadores (EPI's). A sala deve ser equipada com autoclaves e não pode haver janelas. As barreiras secundárias para este nível incluem o acesso controlado ao laboratório e sistemas de ventilação que minimizam a liberação de aerossóis infecciosos do laboratório ao ambiente.

NB-4 (Nível de Biossegurança 4) – É um nível também conhecido como laboratório de máxima contenção e destina-se a manipulação de agentes biológicos com grande poder de transmissibilidade por via respiratória ou de transmissão desconhecida e que

representam alto risco por provocarem doenças fatais. Todas as manipulações realizadas nesse ambiente representam um alto risco de exposição e infecção aos funcionários de laboratório, à comunidade e ao meio ambiente.

Cabine de Segurança Biológica: é o principal equipamento de contenção física para agentes infecciosos. Protege o material e o profissional, na manipulação de materiais biológicos altamente infectantes, substâncias tóxicas e cultura de células. Deve ser cumprido os prazos de revisão e troca de filtros, para o uso seguro e efetivo deste equipamento. As cabines devem estar em local de pouco trânsito e distantes de portas. Existem três tipos de cabine de segurança biológica (Classes I, II e III).

- **Classe I:** é uma cabine em que o fluxo de ar ocorre de fora para dentro, pela abertura frontal, sem recirculação do ar. O ar da cabine passa por um filtro HEPA antes de ser liberado para o interior do laboratório. Essas cabines protegem o operador, mas não o material que está sendo manipulado e podem ser usadas quando se está trabalhando com micro-organismos de baixo ou moderado risco.
- **Classe II:** é uma cabine com abertura frontal na qual uma parte do ar é recirculado. Esse tipo de cabine protege o operador, o material a ser manipulado e o meio ambiente. As CSB da Classe II, da qual existem 4 tipos (A1, A2, B1 e B2), distinguem-se das CSB da Classe I pelo fato de só permitirem o fluxo de ar esterilizado (filtro HEPA) sobre a superfície de trabalho. O fluxo de ar é direcionado para as grades frontais e ao fundo da área de trabalho da cabine, proporcionando proteção pessoal. Além disso, o fluxo descendente de ar, filtrado por HEPA, fornece proteção ao produto, minimizando a possibilidade de contaminação cruzada na superfície de trabalho da cabine. Como o ar exaurido da cabine passa através de um filtro HEPA certificado, torna-se isento de partículas (proteção do ambiente) e pode ser recirculado para o laboratório (CSB tipo A1 e A2) ou é extraído do edifício através de uma canopla ligada ao duto de exaustão, para fora do edifício. O ar de exaustão, em cabines dos tipos B1 e B2, deve ser descarregado diretamente para o exterior, através de uma conexão completa e rígida. Filtros HEPA são eficazes na captura e no bloqueio de partículas, de gotículas e de agentes infecciosos, mas não captam químicos voláteis ou gases. Apenas CSB tipo A2, com extração para o exterior, ou tipos B1 e B2 devem ser utilizadas quando se trabalha com produtos químicos voláteis tóxicos, embora as quantidades usadas devam ser limitadas, ou seja, não substituem capelas de exaustão química.

Para procedimentos com alta probabilidade de gerar aerossóis ou gotículas, usar CBS tipo A1 ou A2 ou precauções adicionais como equipamentos de proteção individual (EPIs) para fornecer uma barreira entre a amostra e o manipulador.

➤ **Quais são os procedimentos que podem gerar aerossóis ou gotículas?**

Preparação de amostras para testes moleculares (por exemplo, PCR de vírus respiratório) antes da inativação da amostra; divisão, alíquota ou diluição de amostras do trato respiratório, amostras fecais, amostras de urina e amostras de tecidos nas quais o vírus não foi inativado; testes rápidos de antígeno de amostras do trato respiratório ou o

processamento simples de qualquer amostra não inativada que possa resultar na geração de aerossóis como pipetagem, agitação, remoção de tampas, aspiração e transferência de sangue ou fluidos corporais.

- **Classe III:** é uma cabine hermeticamente fechada, impermeável a gases, e todo o trabalho é realizado com luvas de borracha que estão presas à câmara. O ar que entra passa por um filtro HEPA e o ar que sai pelo exaustor passa por dois filtros HEPA dispostos sequencialmente. Todos os equipamentos necessários (centrífuga, incubadora etc.) devem estar dentro da cabine. É indicada para o trabalho com microrganismos de alto poder infectante. Oferece o mais alto grau de proteção ao operador e ao meio ambiente.

Quadro 9. Diferenças entre as Câmaras de segurança biológica (CSB) das Classes I, II e III

CSB	VELOCIDADE(m/s)	FLUXO DE AR (%)		SISTEMA DE EXAUSTÃO
		RECIRCULADO	EXPULSO	
Classe I ^a	0,36	0	100	Conduta dura
Classe IIA1	0,38–0,51	70	30	Exaustão para sala ou conexão « dedal »
Classe IIA2 Ventilação para o exterior ^a	0,51	70	30	Exaustão para sala ou conexão « dedal »
Classe IIB1 ^a	0,51	30	70	Conduta dura
Classe IIB2 ^a	0,51	0	100	Conduta dura
Classe III ^a	NA	0	100	Conduta dura

NA Não aplicável.

^a Todas as condutas biologicamente contaminadas estão sob pressão negativa ou rodeadas por condutas e plenums de pressão negativa.

Fonte: Organização Mundial da Saúde. Manual de Segurança Biológica em Laboratório, terceira edição.

Fontes de Referência

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção Relacionada à Assistência à Saúde. Módulo 1: Biossegurança e Manutenção de Equipamentos em Laboratório de Microbiologia Clínica/Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Anvisa, 2013. 44p.: il.9 volumes

Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório – 3a edição. ISBN 9241546506

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Biocontenção : o gerenciamento do risco em ambientes de alta contenção biológica NB3 e NBA3 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2015. 134 p. : il. ISBN 978-85-334-2251-3

<https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/wuhan-novel-coronavirus-handling-and-processing-of-laboratory-specimens#section9>

Grupo de Estudo de Evidências Científicas em COVID-19 – UEM

Composto por Profissionais da Universidade Estadual de Maringá e Outras Instituições de Ensino do Estado do Paraná

<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325884/WHO-WHE-CPI-2019.20-eng.pdf?ua=1>

https://www.moh.gov.sg/docs/librariesprovider7/news-updates-documents/faq_covid19_final_21feb20.pdf

[https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701\(20\)30046-3/pdf](https://www.journalofhospitalinfection.com/article/S0195-6701(20)30046-3/pdf)

https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875

<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>

http://www.anvisa.gov.br/servicos/controle/rede_rm/cursos/boas_praticas/modulo1/biosseguranca.htm

http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/biocontecao_gerenciamento_risco_ambientes_alta_contencao.pdf (pg 111)

<https://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/BisLabManual3rdwebport.pdf?ua=1> (pg 53)