

SERVIÇOS DE LABORATÓRIO

Amostras Biológicas – Coleta, Acondicionamento e Transporte Contexto COVID-19

A responsabilidade do laboratório na emissão de resultados de exames confiáveis é muito grande, pois pode impactar diretamente na decisão assistencial, seja ela um diagnóstico, uma definição de prognóstico ou no acompanhamento terapêutico. A literatura mostra que 70% das decisões médicas são tomadas com base em um exame laboratorial.

Trabalhos desenvolvidos em diferentes centros de referência em saúde, relacionados a erros em laboratórios, constataram que aproximadamente 60 a 90% dos erros laboratoriais encontrados são consequência da falta de padronização na fase pré-analítica. Portanto, é de extrema importância implementar metodologias mais rigorosas para detecção, classificação e redução destes erros.

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) a decisão de testar um paciente deve basear-se em critérios clínicos e fatores epidemiológicos. Na atual pandemia que o mundo enfrenta, a realização do teste para COVID-19 em indivíduos assintomáticos ou levemente sintomáticos deve ser considerado nos casos de indivíduos que tiveram contato com pacientes SARS-CoV-2 positivo.

Exames laboratoriais

A OMS recomenda que durante a pandemia, todos os pacientes que apresentem sinais e sintomas suspeitos para COVID-19 devam ser testados para o vírus SARS-CoV-2. A realização do teste não impede a pesquisa laboratorial para

outros patógenos geradores de pneumonia comunitária, já que as co-infecções podem existir, entretanto, mesmo se outro patógeno respiratório for encontrado, o teste para COVID-19 deverá ser obrigatoriamente realizado.

A correta realização dos procedimentos de coleta, armazenamento e transporte das amostras tem relação direta com a qualidade do resultado oferecido pelo laboratório, auxiliando a tomada de decisão e o tratamento do paciente.

Coleta das amostras

As unidades de saúde devem garantir uma boa comunicação com as unidades laboratoriais. Recomenda-se que os laboratórios tenham fluxos específicos para identificação de pacientes com requisição de exames para pesquisa de SARS-CoV2.

As coletas devem ser realizadas de acordo com os protocolos institucionais e as recomendações dos órgãos regulamentadores de saúde.

EPI – Equipamentos de Proteção Individual

Durante a coleta é obrigatório o uso de equipamentos de proteção individual (EPI):

- Luvas de procedimento
- Capotes
- Máscara N95
- Gorros
- Dispositivo para proteção ocular.

Identificação da amostra

Deve-se identificar todos os tubos com os dados do paciente e demais informações necessárias para sua rastreabilidade. Além disso, é importante definir identificador específico (ex. etiqueta, cor de caneta, etc) para diferenciar os tubos coletados de pacientes suspeitos de contaminação por SARS-CoV-2 dos demais materiais.

Flúídos biológicos que podem ser testados

A Sociedade Brasileira de Análises Clínicas (SBAC) publicou informe técnico, em março de 2020, onde relata que tanto fluídos do trato respiratório superior (secreção nasofaríngea e orofaríngea, aspirado/lavado nasofaríngeo, aspirado nasal), quanto os do trato respiratório inferior (escarro, lavado broncoalveolar, aspirado traqueal) podem ser empregados e sua escolha dependerá dos recursos disponíveis e do estado clínico do paciente.

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) nos casos de pacientes com tosse produtiva.

- **Secreção nasofaríngea:** Usar somente swab de fibra sintética com haste de plástico. Realizar o procedimento institucionalizado de coleta de swab. Sempre utilizar dois swab, um para cada narina. Após a coleta, inseri-los, imediatamente, no frasco contendo meio de transporte para vírus.

- **Secreção orofaríngea:** Usar somente swab de fibra sintética com haste de plástico. Realizar o procedimento institucionalizado de coleta de swab. Após a coleta, inseri-los, imediatamente, no frasco contendo meio de transporte para vírus, não utilizar o mesmo tubo utilizado para a nasofaringe.

ATENÇÃO: Nunca utilizar swab com hastes de madeira ou que contenham alginato de cálcio, pois eles podem conter substâncias que inativam alguns vírus e inibem o teste de PCR.

- **Aspirado ou lavado nasofaríngeo, lavado broncoalveolar, ou aspirado traqueal:** Coletar 2 a 3 mL do material em um recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.
- **Escarro:** A indução de escarro não é recomendada, portanto esta amostra só deve ser coletada de pacientes com tosse produtiva. Peça ao paciente que lave a boca com água e depois tussa forte e diretamente no recipiente de coleta. Esta coleta deve ser feita em ambiente apropriado que permita o isolamento do paciente durante a sua execução devido a produção de aerossol. Coletar de 2 a 3 mL do material em um recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.

Transporte

O CDC e a OMS reforçam que as amostras coletadas para a detecção de vírus devem chegar ao laboratório o mais rápido possível, e que é fundamental o manuseio adequado e seguro dessas amostras durante o transporte.

- As amostras de pacientes de casos suspeitos ou confirmados devem ser transportadas como UN3373 “Biológico. Substância, categoria B”.
- Culturas virais ou isolados devem ser transportados como Categoria A, UN2814, “substância infecciosa que afeta humanos”.

A RDC nº 20 da ANVISA de 2014 que regulamenta o transporte de material biológico humano, especifica em detalhes as maneiras adequadas de embalagem e transporte de materiais biológicos das categorias A e B, com segurança e manutenção da estabilidade das amostras.

Armazenamento

As amostras podem ser armazenadas refrigeradas ou congeladas e se necessário acondicionadas em gelo seco durante o transporte. O congelamento e descongelamento das amostras, repetidas vezes, pode levar a perda do material do coletado.

Tipo de amostra	Material de coleta	Temperatura de armazenamento para análise em até 72 horas	Temperatura de armazenamento para análise após 72 horas
Fluído nasofaríngeo e orofaríngeo	Swab de fibra sintética com haste de plástico e frasco contendo meio de transporte para vírus	2-8 °C	-70 °C
Lavado broncoalveolar	Recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.	2-8 °C	-70 °C
Escarro	Recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.	2-8 °C	-70 °C
Tecido de biópsia ou autópsia, incluindo do pulmão	Recipiente estéril com solução salina	2-8 °C	-70 °C
Amostra sanguínea	Tubo de coleta	2-8 °C	-70 °C

Tipo de amostra	Material de coleta	Temperatura de armazenamento para análise em até 48 horas	Temperatura de armazenamento para análise após 48 horas
Aspirado endotraqueal, lavado/aspirado nasofaríngeo.	Recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.	2-8 °C	-70 °C
Líquido pleural.	Recipiente à prova de vazamento, com tampa de rosca, seco e estéril.	2-8 °C	-70 °C

Fonte: CDC e OMS (referências 1 e 8).

Métodos laboratoriais: PCR e Sorologia para COVID-19

Assim como os coronavírus responsáveis pela SARS e MERS, o vírus SARS-CoV-2 já foi detectado nas fezes, contudo, não se sabe por quanto tempo ele sobrevive, motivo este da não existência de um protocolo definido para a sua pesquisa neste material.

- **PCR**

Segundo a OMS e o CDC, o padrão ouro para diagnóstico laboratorial da COVID-19 é a reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase (RT-PCR) para amostras coletadas no trato respiratório superior ou inferior.

O teste sorológico identifica a presença de anticorpos e proteínas específicas produzidas em resposta a infecção. Esses anticorpos podem ser encontrados no sangue e em outros tecidos de pessoas que testaram positivas para a infecção pelo método RT-PCR. Os resultados dos testes de anticorpos são importantes na detecção de infecções com poucos ou nenhum sintoma.

Segundo a OMS, a sensibilidade do teste varia de acordo com a origem da amostra de secreção respiratória, sendo de 93% para lavado broncoalveolar, 63% para swab nasal e 32% para swab da faringe (2).

- **Testes rápidos**

A OMS recomenda a realização de teste rápido (utilizam a metodologia denominada imunocromatografia ou imunoensaio quimioluminescente) em pacientes suspeitos para COVID-19, pois auxilia na gestão clínica e no controle de surtos, e ressalva que deve ser realizado sempre com o acompanhamento de um profissional especializado em análises clínicas.

A SBAC publicou informe técnico sobre a análise da bula dos Kits de testes rápidos dos principais fabricantes atuantes no mercado brasileiro, atualmente, e chegou às seguintes informações:

- ⇒ **Tipos de amostras** (soro, plasma, sangue total) - Analisar as bulas do reagente utilizado.
- ⇒ **Especificidade:** A especificidade citada pelos fabricantes de KIT para os anticorpos do tipo IgM varia entre 95% a 96%, de acordo com o fabricante. Para os anticorpos do tipo IgG oscila entre 95% a 98%.
- ⇒ **Sensibilidade:** Em relação a sensibilidade para os anticorpos IgM todos os fabricantes informam 85% e para os anticorpos do tipo IgG varia de 95% a 100%.

- ⇒ **Reações Cruzadas:** Pesquisas mencionam a testagem de reações cruzada com amostras positivas para vírus anti-influenza A, vírus anti-influenza B, anti-RSV, anti-adenovírus, anti-sífilis, anti-H.Pylori, anti-HIV, anti-HCV e HBsA, e que os resultados não mostraram reatividade cruzada.
- ⇒ **Limitações do teste:** um dos fabricantes afirma que o nível do hematócrito do sangue total testado pode afetar o resultado do teste e afirma que o valor do hematócrito da amostra deve estar entre 25% e 65% para que se obtenha resultados precisos.
- ⇒ **Interferentes:** um dos fabricantes cita que os testes realizados não apresentaram interferências das substâncias a seguir citadas até as concentrações indicadas: Triglicerídeos até 50 mg/dl; Hemoglobina até 1000 mg/dl, Ácido ascórbico até 20 mg/dl, Bilirrubina até 60 mg/dl, Colesterol até 6 mmol/L (aproximadamente 232 mg/dl). Nenhuma das bulas citou que controles positivo e negativo serão fornecidos junto aos reagentes.
- ⇒ **Estabilidade da amostra:** soro ou plasma: 2º a 8ºC até 7 dias; o armazenamento abaixo de -20ºC é citado por um dos fabricantes que entretanto não especifica o tempo máximo. Sangue total obtido por punção venosa: 2º a 8ºC por até 48 horas. Sangue total obtido por punção capilar: a análise deve ser imediata

Observação: A SBAC recomenda que, como alguns conjuntos de reagentes para testes sorológicos foram autorizados pela Anvisa em caráter emergencial, devido a gravidade da situação e a necessidade de ampliar a testagem da população, os laboratórios realizem a validação destes

reagentes, já que poucos trabalhos conseguiram ser publicados até o momento.

Os testes laboratoriais remotos (testes rápidos) foram desenvolvidos para serem realizados em equipamentos portáteis, que podem ser alocados em diferentes locais, de acordo com a Resolução nº 302 de 13 de outubro de 2005, que dispõe sobre o Regulamento Técnico para o funcionamento dos laboratórios e deve estar vinculado a um laboratório clínico, posto de coleta, ou serviço de saúde pública ambulatorial ou hospitalar.

Essa mesma resolução define que o responsável técnico do laboratório de análises clínicas é o responsável por todos os exames realizados a distância por essa metodologia em hospitais, unidades ambulatoriais, hospital dia, posto de coleta, incluindo a coleta laboratorial em domicílio ou em unidade móvel. A escolha da metodologia analítica dos testes, a capacitação dos profissionais para a coleta, armazenamento, execução do teste e liberação do laudo é de responsabilidade deste profissional.

Em cada local de realização deste teste, devem estar disponíveis orientações para:

- Tipo de amostra aceitável,
- Tempo de estabilização da amostra;
- Restrição da amostra;
- Limitações diagnósticas e técnicas do teste (sensibilidade, especificidade e fatores interferentes na amostra).

É item obrigatório na emissão do laudo provisório a identificação completa do paciente, horário da coleta e realização do teste. O laudo final poderá somente

ser assinado por profissional habilitado vinculado ao Responsável Técnico (RT) de um laboratório clínico.

Resultados

Um ou mais resultados negativos não descartam a possibilidade de infecção pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2). Um grande número fatores pode levar a um resultado negativo em um indivíduo infectado, incluindo:

- Baixa qualidade da amostra, contendo pouco material do paciente.
- Amostra coletada tardiamente ou muito no início da infecção.
- Espécime não foi manuseado, armazenado e enviado adequadamente.
- Razões técnicas inerentes ao teste (mutação viral ou inibição de PCR).

Nos casos com alto índice de suspeita e resultados negativo, principalmente quando apenas amostras das vias respiratórias superiores foram coletadas, recomenda-se a testagem de amostra coletada das vias respiratórias inferiores.

Biossegurança

Segundo a OMS, os laboratórios que realizam testes para o novo coronavírus SARS-CoV-2 devem reforçar a segurança interna:

- Qualquer teste para a presença de SARS-CoV-2 deve ser realizado em laboratórios adequadamente equipados e por uma equipe previamente treinada nos procedimentos técnicos e de segurança relevantes.
- Cada laboratório deve realizar uma avaliação de risco local (institucional) para garantir um lugar seguro para o armazenamento adequado de amostras e realização do teste para SARS-CoV-2.

- As diretrizes de biossegurança em laboratório devem ser seguidas em todas as etapas.
- O manuseio e processamento de amostras de casos com suspeita ou confirmação de infecção por SARS-CoV-2 destinada a exames laboratoriais adicionais, como hematologia ou análise de gases no sangue, devem seguir as diretrizes específicas para evitar contaminações.
- O manuseio de material com altas concentrações de vírus vivos (ensaios de isolamento ou neutralização de vírus) ou grandes volumes de materiais infecciosos deve ser realizado apenas por pessoal adequadamente treinado.
- É recomendado realizar a desinfecção com solução a ser definida pelo serviço de infecção hospitalar do frasco e invólucro de guarda do material de pacientes com suspeita ou confirmados pelo Covid 19, antes de encaminhá-lo ao laboratório.
- O processamento inicial (antes da inativação) de todas as amostras, incluindo aquelas para sequenciamento e NAAT, deve ocorrer em um gabinete de segurança biológica, adequadamente mantido e validado ou em um dispositivo de contenção primário.
- Todos os procedimentos técnicos devem ser realizados de forma a minimizar a geração de aerossóis e gotículas.
- Os Equipamentos de Proteção Individual (EPI) apropriados, conforme determinado pela avaliação de risco institucional, deve ser usado por todo o pessoal do laboratório que manipula essas amostras.
- Todo o material, equipamentos, bancadas, tubos, entre outros, devem ser desinfetados com produtos químicos apropriados (hipoclorito de sódio a 0,1% ou etanol 70%, por pelo menos 1 minuto de exposição).

Referências

1 - World Health Organization (WHO) - Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases. Interim guidance 2 March 2020 - WHO/COVID-19/laboratory/2020.4 - <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331329/WHO-COVID-19-laboratory-2020.4-eng.pdf>

2 - World Health Organization (WHO) - Laboratory biosafety guidance related to the novel coronavirus (2019-nCoV) Interim guidance 12 February 2020 - WHO/WPE/GIH/2020.1 [https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-\(ncov\)-infection-is-suspected-20200125](https://www.who.int/publications-detail/infection-prevention-and-control-during-health-care-when-novel-coronavirus-(ncov)-infection-is-suspected-20200125)

3 - POSICIONAMENTO OFICIAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL (SBPC/ML) - DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA INFECÇÃO PELO NOVO CORONAVÍRUS (COVID-19), 2020. <http://www.sbpc.org.br/wp-content/uploads/2020/02/DiagnosticoLaboratorial-DaInfeccaoPeloNovoCoronavirus.pdf>

4 – Instituto de Gestão Estratégica Em Saúde do Distrito Federal (IGESDF) - DIRETORIA DE ENSINO, PESQUISA E INOVAÇÃO NÚCLEO DE AVALIAÇÃO DE TECNOLOGIAS EM SAÚDE – NOTA TÉCNICA – TESTE DIAGNÓSTICO PARA COVID-19 <https://igesdf.org.br/noticia/nota-tecnica-teste-diagnostico-para-covid-19/>

5 - RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA – RDC Nº 302, DE 13 DE OUTUBRO DE 2005 - Dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos. http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2718376/RDC_302_2005_COMP.pdf/7038e853-afae-4729-948b-ef6eb3931b19

6 - Diretrizes para gestão e garantia de qualidade para os Testes Laboratoriais Remotos (Point of Care) – Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial – 2004. <http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/320090723141248.pdf>

7 - SOCIEDADE BRASILEIRA DE ANÁLISES CLÍNICAS (SBAC) INFORME TÉCNICO DE 25 DE MARÇO DE 2020 - Métodos laboratoriais para diagnóstico da COVID-19. <http://www.sbac.org.br/blog/category/coronaviruscovid-19/>

8 – Centers for Diseases Control and Prevention (CDC) - Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), Updated April 14, 2020. <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/guidelines-clinical-specimens.html>

9 – ANVISA - RESOLUÇÃO DE DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 20, DE 10 DE ABRIL DE 2014 - Dispõe sobre regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano. [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/\(1\)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7ffcaa258ba](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/(1)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7ffcaa258ba)

10 - D Capitani C, Marocchi A, Tolio A. Automation of the Pre-Analytical Phase: A Performance Evaluation of Alternative Scenarios. Journal of the Association for Laboratory Automation, JALA.2002;7(2).

11- Forsman RW. Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations? Clin Chem. 1996;42(5):813-6.

12 – Wiwanitkit V. Types and frequency of preanalytical mistakes in the first Thai ISO 9002:1994 certified clinical laboratory, a 6 - month monitoring. BMC Clin Pathol. 2001;1:1-5.

13 – Plebani M. Towards quality specifications in extraanalytical phases of laboratory activity. Clin Chem Lab Med. 2004;42(6):576-7.