



**SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE CONTROLE DE DOENÇAS
INSTITUTO ADOLFO LUTZ
Centro de Virologia**

Núcleo de Doenças Respiratórias

**PROTOCOLO LABORATORIAL PARA COLETA DE AMOSTRAS
BIOLÓGICAS DE CASOS SUSPEITOS DE INFECÇÃO PELO MERS-CoV,
INFLUENZA A (H5N1), INFLUENZA A (H7N9).**

(10/6/2014)

Considerações gerais:

Considerando que um caso suspeito de MERS-CoV, vírus da influenza do tipo A estirpes (H5N1) e (H7N9) o paciente deverá estar internado em um quarto com pressão negativa e o responsável pela coleta deverá utilizar todos os Equipamentos de Proteção Individual (EPI): luvas, avental apropriado, óculos de proteção, atenção especial quanto a utilização de respiradores com filtro HEPPA. Na impossibilidade da utilização de respiradores recomenda-se o uso de máscaras N95, na impossibilidade desta utilizar a máscara cirúrgica.

(1) Coleta de amostras biológicas:

(1.1) Amostras biológicas preconizadas pelo *Center for Diseases Control and Prevention* – CDC e que serão processadas pela FIOCRUZ – Referência no Brasil – para o diagnóstico dos casos suspeitos de infecção pelo novo coronavírus denominado (*Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus* – **MERS-CoV**)

Priorizar a coleta das amostras biológicas dos casos suspeitos na seguinte ordem:

- a) Amostras do trato respiratório inferior – escarro, lavado bronco alveolar, aspirado traqueal; líquido pleural;
- b) Amostras do trato respiratório superior - *swabs* combinados (secreções da nasofaringe e orofaringe);
- c) Soro: detecção do **vírus** pelo rRT-PCR em tempo real. A amostra deverá ser coletada nos primeiros sete dias após o início dos sintomas.

Para a realização do rRT-PCR é necessária a obtenção de 200uL do soro. Manter o soro sob-refrigeração a 2 – 8°C e transportar para o Laboratório em gelo; o transporte do soro poderá ser realizado em gelo seco na dependência da localidade da coleta e o Laboratório de Referência.

(1.2) Amostras biológicas preconizadas pelo *Center for Diseases Control and Prevention* – CDC e que serão processadas pela FIOCRUZ, para o diagnóstico de casos suspeitos de infecção pelo vírus da influenza do tipo **A (H5N1)**. Priorizar a coleta das amostras biológicas dos casos suspeitos na seguinte ordem:

- a) Amostras do trato respiratório superior – Aspirado da nasofaringe ou *swab* da nasofaringe, coletados nos três primeiros dias após o início dos sintomas;
- b) Amostras do trato respiratório inferior – lavado bronco alveolar, lavado traqueal.

(1.3) Amostras biológicas preconizadas pelo *Center for Diseases Control and Prevention* – CDC e que serão processadas pela FIOCRUZ, para o diagnóstico de casos suspeitos de infecção pelo vírus da influenza do tipo **A (H7N9)**. Priorizar a coleta das amostras biológicas dos casos suspeitos na seguinte ordem:

- a) Amostras do trato respiratório superior - Aspirado da nasofaringe ou *swab* da nasofaringe **ou**; *swabs* combinados (nasofaringe e orofaringe) deverão ser coletados idealmente nos três primeiros dias após o início dos sintomas;
- b) Amostras do trato respiratório inferior - Lavado bronco alveolar ou aspirado endotraqueal.

As amostras biológicas, coletadas pelas diferentes Unidades de Saúde, serão encaminhadas ao INSTITUTO ADOLFO LUTZ/Central, responsável pelo envio à FIOCRUZ, em conformidade com as normas preconizadas pela *INTERNATIONAL AIR TRANSPORT ASSOCIATION* – **IATA**.

(2) Procedimentos para a coleta de amostras biológicas dos casos suspeitos de infecção pelo MERS-CoV, Influenza A (H5N1), Influenza A (H7N9).

(2.1) Amostras respiratórias do trato respiratório inferior -

(2.1.a) Lavado bronco alveolar, aspirado traqueal, líquido pleural.

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

horas. Caso não seja possível à entrega do material até o Laboratório no prazo de 72 horas proceder ao congelamento em freezer a -70°C imediatamente após a coleta, realizar o transporte da amostra até o Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar ANEXO I.

(2.1.b) Escarro

Após a lavagem da cavidade bucal com água, solicitar ao paciente que despreze o conteúdo da expectoração (escarro) em um frasco estéril e seco. Armazenar a amostra sob-refrigeração de 2 – 8 °C; caso o transporte da amostra até o Laboratório ocorra no prazo de até 72 horas. Caso não seja possível à entrega do material até o Laboratório no prazo de 72 horas proceder ao congelamento em freezer a -70°C imediatamente após a coleta, realizar o transporte da amostra até o Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar ANEXO I.

(2.2) Amostras respiratórias do trato superior -

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 do rRT-PCR.

Swabs combinados (nasofaringe e orofaringe)

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

1° Narina direita;

2° Narina esquerda;

3 °Orofaringe

Procedimentos para a coleta dos *swabs* - Introduzir o *swab* até a nasofaringe aguardar alguns segundos realizando movimentos rotatórios para captação de células da nasofaringe, e absorção da secreção respiratória. Realizar o mesmo procedimento em ambas as narinas.

O terceiro *swab* será utilizado na coleta de secreção respiratória da parte posterior da orofaringe evitando contato com a língua para minimizar contaminação.

IMPORTANTE: Os três *swabs* **DEVERÃO** ser acondicionados em tubo de rosca estéril tipo Falcon, contendo **três mL** de soro fisiológico estéril.

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 infeccioso.

As amostras coletadas poderão ser armazenadas até 72 horas a 2- 8 °C.

Caso não seja possível à entrega do material até o Laboratório no prazo de 72 horas congelar em freezer a – 70°C imediatamente após a coleta. A amostra deverá ser identificada com o nome do paciente, tipo de amostra e data da coleta e transportada até o Laboratório em gelo seco ou nitrogênio líquido, consultar ANEXO I.

OBSERVAÇÕES: Na impossibilidade de coletar as amostras respiratórias de paciente com evolução ao óbito, preconiza-se:

- A coleta de sangue imediatamente após o óbito para investigação do MERS-CoV, vírus da influenza do tipo A estirpes (H5N1), (H7N9), (H1N1)pdm09, H3N2 e vírus da influenza do tipo B;
- Fragmentos de tecidos: fragmento de pulmão “in natura” acondicionado em frasco plástico estéril.

ANEXO I

- **JAMAIS** UTILIZAR FRASCOS DE VIDRO OU DE POLIPROPILENO SEM TAMPA DE ROSCA PARA O ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DA AMOSTRA BIOLÓGICA.
- NÃO TRANSPORTAR A AMOSTRA BIOLÓGICA SEM A DEVIDA CONTENÇÃO NO INTERIOR DA CAIXA DE ISOPOR (EVITAR O DERRAMAMENTO DO MATERIAL INFECTADO), PRINCIPALMENTE QUANDO TRANSPORTADA POR MOTOBOYS);
- NÃO ACONDICIONAR A FICHA COM OS DADOS DO PACIENTE NO INTERIOR DA CAIXA DE ISOPOR, CONTENDO A AMOSTRA BIOLÓGICA COLETADA;
- EM CASO DE TRANSPORTE UTILIZANDO O NITROGÊNIO LIQUIDO O **ÚNICO** FRASCO PERMITIDO É O DE POLIPROPILENO **COM TAMPA DE ROSCA**;
- REALIZAR CRITERIOSAMENTE TODOS OS PROCEDIMENTOS QUANTO À COLETA, ARMAZENAMENTO 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;
- AS CONSIDERAÇÕES ACIMA DESCRITAS DEVERÃO SER APLICADAS NA COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS DE CASOS SUSPEITOS DE MERS – CoV, VÍRUS DA INFLUENZA DO TIPO A ESTIRPES (H5N1), (H7N9), (H1N1)pdm09, H3N2, VÍRUS DA INFLUENZA DO TIPO B E DEMAIS VIROSES RESPIRATÓRIAS EMERGENTES.

Referências:

- Interim guidelines for collecting, handling, and testing clinical specimens from patients under investigation (PUIs) for Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV)

<http://www.cdc.gov/coronavirus/mers/guidelines-clinical-specimens.html>

- WHO guidelines for the collection of human specimens for laboratory diagnosis of A/H5 infection.

http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/en/.

Responsáveis Técnicos pela elaboração do protocolo: Núcleo de Doenças Respiratórias/ Centro de Virologia/IAL:

Daniela Bernardes Borges da Silva – danielabiologia@bol.com.br;

Fone: (11) 3068 2913;

Margarete Aparecida Benega Pinho – mabenega@bol.com.br;

Fone: (11) 3068 2913;

Terezinha Maria de Paiva – tterezinha@uol.com.br;

Fone: (11) 3068 2913;

Suely Pires Curti – spcurti@uol.com.br; fone (11) 3068 2906