

PROTOCOLO LABORATORIAL PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA INVESTIGAÇÃO DE VÍRUS RESPIRATÓRIOS

Objetivo:

Orientar a realização de coleta, acondicionamento/conservação e transporte de amostras biológicas, com vistas ao diagnóstico laboratorial de vírus respiratórios por RT-PCR em tempo real **aos indivíduos sintomáticos**.

Orientações gerais:

- Certificar-se de que o paciente atende a definição de caso de Síndrome Gripal (SG), Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG) ou Surto institucional de Síndrome Gripal:
 - **Definição de caso de Síndrome Gripal (SG):** Indivíduo com febre, mesmo que referida, acompanhada de tosse ou dor de garganta e com início dos sintomas nos últimos 7 dias.
 - **Definição de Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG):** Indivíduo com SG que apresente: dispneia/ desconforto respiratório, ou pressão ou dor persistente no tórax, ou saturação de O₂ menor ou igual a 94% em ar ambiente, ou coloração azulada (cianose) dos lábios ou do rosto.
 - **Definição de Surto institucional de SG:** Ocorrência de dois ou mais casos suspeitos ou confirmados de SG, que tenham relação entre si e sinais e sintomas semelhantes em uma mesma instituição (ambiente fechado/restrito), e em período de até 07 dias para o vírus Influenza e até 10 dias para o SARS-CoV-2.



- Certificar-se da correta notificação de casos:
 - Síndrome Gripal coletada pelas Unidades Sentinela de SG: SIVEP-Gripe, módulo sentinela <https://sivepgripe.saude.gov.br/sivepgripe>
 - Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG): SIVEP Gripe <https://sivepgripe.saude.gov.br/sivepgripe>
 - Óbitos por SRAG: SIVEP-Gripe <https://sivepgripe.saude.gov.br/sivepgripe>
 - Surto de SG: Sinan Net Módulo Surto <https://portalsinan.saude.gov.br/surto>
- A investigação de infecções respiratórias devem seguir as recomendações de Biossegurança destinadas aos profissionais de saúde que trabalham com agentes infecciosos. Constituem a primeira linha de proteção, os equipamentos de proteção individual (EPI):
 - Gorro descartável
 - Óculos de proteção
 - Máscara do tipo N95, FFP2 ou similar
 - Luva de procedimento
 - Avental de mangas compridas
 - Calçados fechados
- Todos os procedimentos técnicos devem ser realizados de modo a minimizar a geração de aerossóis e gotículas.



Estratégia laboratorial:

O diagnóstico laboratorial para identificação do vírus será realizado por RT-PCR em tempo real (método padrão ouro) para os casos de SG coletados pelas Unidades Sentinela de SG, SRAG, óbitos e Surto institucional de SG.

- Em surtos institucionais de SG, será permitida a coleta de **5 a 10 amostras respiratórias** por surto.

Oportunidade de coleta:

Serão submetidas a exames de RT-PCR em tempo real para diagnóstico de vírus respiratórios:

- Amostras coletadas **entre o 1º e o 8º dia após o início dos sintomas**, quando tratar-se de indivíduo sintomático, na fase aguda da infecção, que atenda a definição de caso de SG ou SRAG.

Coleta:

O processo de coleta é um dos pontos críticos para o resultado do exame. Uma coleta inadequada, com uso do *swab* na porção mais externa da cavidade nasal ou na língua, leva à obtenção de baixo ou nenhum material viral, que não será detectado mesmo por métodos tão sensíveis como métodos moleculares.

Segundo o CDC, para coleta de amostras de trato respiratório superior devem ser utilizados *swabs* de fibra sintética (rayon) com haste de plástico. Não devem ser usados *swabs* de alginato de cálcio ou com hastes de madeira, pois eles podem conter substâncias que inativam alguns vírus e inibem o teste de PCR.

Os protocolos para coletas de amostras de trato respiratório superior preconizam o uso de 03 *swabs* combinados (2 de nasofaringe e 1 de orofaringe), colocados em **tubo de tampa de rosca** com 3 mL de solução fisiológica estéril.

- Em pacientes hospitalizados, o Ministério da Saúde recomenda a coleta de lavado broncoalveolar como amostra preferencial ao *swab*.
- Não inserir qualquer tipo de identificação na haste do *swab*, para evitar a contaminação do material.
- Não utilizar tubos que não tenham tampa de rosca, pois não serão aceitas amostras enviadas em tubos com tampa de pressão.



Cadastro no GAL:

Todas as amostras devem ser cadastradas no GAL.

- Amostras relacionadas a casos de SRAG, óbitos ou a surtos institucionais de SG devem utilizar as respectivas pesquisas:
 - **SRAG** – finalidade “programa” e “descrição SRAG universal”
 - **Óbito** – finalidade “investigação” e descrição “vírus respiratórios”
 - **Surto institucional** – finalidade “investigação” e descrição “vírus respiratórios”
- Amostras de casos de SG coletadas nas unidades sentinela de SG devem utilizar a pesquisa:
 - Síndrome gripal – finalidade “programa” e descrição “unidade sentinela de influenza – Síndrome Gripal”

Encaminhamento das amostras:

As amostras devem ser encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz (Laboratório Central ou seus Centros de Laboratórios Regionais).

- **Devem estar adequadamente identificadas;**
- Devem vir acompanhadas das respectivas fichas de notificação (SIVEP-Gripe ou SINAN), devidamente preenchidas (nos casos de SRAG devem conter informações relacionadas à internação).

O prazo de liberação do exame será de **até cinco dias úteis**. Este prazo poderá ser eventualmente estendido, considerando a necessidade de realizar também a pesquisa para outros vírus respiratórios, de acordo com a disponibilidade de insumos e capacidade laboratorial.



Acondicionamento e transporte das amostras:

- As amostras devem ser acondicionadas e transportadas **na posição vertical**, para garantir que os *swabs* estarão imersos na solução fisiológica.
- Não acondicionar as fichas com os dados do paciente no interior da caixa isotérmica.
- Segundo recomendações da OMS, as amostras devem ser mantidas refrigeradas (2-8°C) até o processamento. No transporte das amostras ao laboratório deve-se assegurar a manutenção da temperatura.
- A embalagem para o transporte de amostras deve seguir os regulamentos de remessa para Substância Biológica UN 3373, Categoria B.

Crítérios para rejeição de amostras:

- Amostras encaminhadas em desacordo com as orientações deste documento não serão recebidas:
 - amostras que não estiverem acondicionadas e transportadas na posição vertical;
 - amostras que não estiverem refrigeradas;
 - amostras que não estiverem em tubo de tampa de rosca;
 - *swabs* acondicionados em tubos secos, sem os 3 mL de soro fisiológico estéril;
 - amostras coletadas em *swabs* contendo alginatos ou com haste de madeira;
 - *swabs* com qualquer tipo de identificação na haste;
 - tubo aberto, quebrado, extravasado;
 - amostras sem identificação, com identificação incompleta ou ilegível;
 - amostras sem documentos de notificação (SIVEP-Gripe, e-SUS VE, SINAN);
 - amostras sem cadastro no GAL;
 - amostras sem encaminhamento/lista de remessa do GAL.



Documento atualizado em fevereiro de 2025, São Paulo, Brasil, por:

Fabiana Cristina Pereira dos Santos e equipe técnica - Núcleo de Doenças Respiratórias/Centro de Virologia/IAL/CCD/SES-SP.

Telma R.M.P. Carvalhanas, Pamella Cristina de Carvalho Lucas e equipe técnica - DT/GT Síndromes Gripais/DDTR/CVE/CCD/SES-SP.