

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	1/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

SUMÁRIO

1.	OBJETIVO2
2.	CAMPO DE APLICAÇÃO2
3.	REFERÊNCIAS2
4.	DEFINIÇÕES, SIGLAS E ABREVIATURAS2
4.1	Definições2
4.2	Siglas e abreviaturas3
5.	RESPONSABILIDADES3
6.	DESCRIÇÃO3
6.1	BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS E BIOSSEGURANÇA3
6.2	COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS
	CLÍNICAS4
6.3	MATERIAIS E REAGENTES5
6.4	INDICAÇÃO DE COLETA DE AMOSTRAS5
6.5	COLETA DE ASPIRADO DE NASOFARINGE (ANF)5
6.6	COLETA DE SWABS DE NASOFARINGE (SNF) OROFARINGE (SOF)7
6.7	LAVADO BRÔNQUICO (TRAQUEOBRÔNQUICO, BRONCO ALVEOLAR) .8
6.8	ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIME CLÍNICO8
7.	
ANE	EXO A – PROCEDIMENTO DE COLETA PARA COVID-199

Atividade	Data	Nome	Assinatura
Elaboração	27/03/2020	José Garcia de Araújo Júnior	
Verificação	28/03/2020	Fabiana Maria Dantas da Silva	
Aproveção 20/02/2020		Jorge Antônio Chamon Júnior	
Aprovação	30/03/2020	José Garcia de Araújo Júnior	



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	2/9

Título MANUAL DE	COLETA PARA COVID-19
------------------	----------------------

1. OBJETIVO

Este manual tem por finalidade padronizar a coleta laboratorial e fluxo de amostras de acordo com o preconizado pelo Ministério da Saúde, visando fortalecer o diagnóstico laboratorial e a vigilância virológica por meio de métodos padronizados para a coleta dos vírus COVID-19.

2. CAMPO DE APLICAÇÃO

Este manual aplica-se o âmbito interno do Lacen-DF e às unidades de saúde que encaminham amostras a este órgão.

3. REFERÊNCIAS

Guia para a Rede LaboratorialdeVigilância de Influenza noBrasil, MINISTÉRIO DA SAÚDE, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis, Brasília – DF 2016

Manual De Coleta, Acondicionamento E Transporte De Amostras Biológicas Para Exames Laboratoriais, MC-GESL-NURE-0003, Revisão 05, data: 26/03/2020

4. DEFINIÇÕES, SIGLAS E ABREVIATURAS

4.1 Definições

Gripe ou influenza: é uma doença infectocontagiosa aguda do trato respiratório, de distribuição global, causada pelo vírus da influenza. Pessoas de todas as idades são susceptíveis a infecção por estes vírus, entretanto, idosos, crianças, gestantes e pessoas com algumas comorbidades (cardiopatas, pneumopatas, hipertensos, diabéticos, obesos mórbidos, entre outros) possuem um risco maior de desenvolver complicações devido à infecção por influenza, responsável por cerca de meio milhão de óbitos anuais em todo o mundo (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2014).

Swab: utensílio composto por uma haste, sendo uma das extremidades revestida de algodão, estéril, utilizado para coleta de amostras biológicas.

COVID-19: é uma doença infeciosa causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (SARS-CoV-2). Os sintomas mais comuns são febre, tosse e dificuldade em respirar.



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	3/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

4.2 Siglas e abreviaturas

ANF Aspirado de nasofaringe

EPC Equipamento de proteção coletiva
EPI Equipamento de proteção individual
Lacen Laboratório Central de Saúde Pública

NB1 Nível Biológico 1NB2 Nível Biológico 2

MA Manual

SG Síndrome Gripal SNF Swab de nasofaringe

SRAG Síndrome Respiratória Aguda Grave

TA Temperatura Ambiente

5. RESPONSABILIDADES

Ao Núcleo de Recepção cabe:

Captar, triar, receber e coletar amostras biológicas e distribuir kits de diagnóstico.

Às unidades da Secretaria de Estado de Saúde do Distrito Federal (SES/DF), aos Hospitais e laboratórios particulares e aos Lacens de outros estados cabem:

Coletar e encaminhar amostras biológicas conforme os critérios deste manual.

Aos servidores da área técnica responsável pela análise do Lacen-DF cabem:

Receber as amostras no Núcleo de Recepção.

6. DESCRIÇÃO

6.1 BOAS PRÁTICAS LABORATORIAIS E BIOSSEGURANÇA

Os agentes infecciosos possuem risco potencial de contaminação do ambiente ou do indivíduo que realiza o processamento da amostra. De acordo com esse risco, cada agente é classificado em uma classe de risco biológico. Existem quatro classes de risco, sendo necessários níveis de contenção diferentes para a manipulação dos agentes de cada classe. Esses níveis de contenção são denominados de níveis de biossegurança (NB1 e NB2) e são designados em ordem crescente no maior grau de complexidade de equipamentos de



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	4/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

proteção individual (EPI) e de proteção coletiva (EPC), barreiras primárias e secundárias, e procedimentos requeridos para o trabalho com os agentes de cada classe de risco biológico.

O trabalho com agentes infecciosos exige a utilização de práticas seguras de laboratórios, equipamentos de biocontenção apropriados, instalações bem projetadas e controles laboratoriais e administrativos que visam minimizar ou eliminar os riscos de infecção ou lesão acidental do pessoal do laboratório. A avaliação de risco para o manuseio de um agente infeccioso específico determinará a combinação dessas práticas. Com relação ao vírus influenza, de acordo com o subtipo, áreas de biocontenção diferentes são exigidas para que o trabalho em laboratório seja realizado.

Com o intuito de minimizar exposição ocupacional ao vírus influenza, práticas seguras de laboratório são requeridas, assim como instalações laboratoriais apropriadas ao nível de biossegurança requerido para o subtipo viral. No caso do diagnóstico do COVID-19 todas as práticas e procedimentos laboratoriais devem ser realizados com base nos requerimentos mínimos para a manipulação de amostras de NB2.

6.2 COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS CLÍNICAS

O sucesso do diagnóstico depende fundamentalmente da qualidade do espécime clínico coletado, do seu adequado transporte e das condições de armazenamento antes do processamento no laboratório. A sensibilidade do método também é influenciada pela especificidade dos reagentes utilizados e pela experiência técnica do profissional responsável pelo exame. As amostras clínicas requeridas para o diagnóstico de infecções viral no trato respiratório superior são em ordem de preferência: aspirado de nasofaringe (ANF) ou swabs combinado (nasal/oral), obtido até sete dias do início do aparecimento dos sintomas (fase aguda da doença). Seja qual for a natureza do espécime, a sua obtenção deve ser realizada observando-se a seguintes medidas de biossegurança:

- a) uso de gorro;
- b) máscara;
- c) óculos;
- d) luvas;
- e) jaleco.

Os vírus influenza replicam principalmente nas células do epitélio do trato respiratório. A principal via de transmissão são as secreções respiratórias transportadas pelo ar. A coleta de amostras do trato respiratório para o diagnóstico do vírus influenza deve procurar maximizar a coleta de células epiteliais infectadas pelo vírus. Aspirados de Nasofaringes (ANF) têm um maior teor celular e são superiores aos *swabs* de Nasofaringe (SNF) no que concerne ao isolamento do vírus influenza. Os *swabs* e as lavagens de garganta são de uso limitado no diagnóstico de influenza, uma vez que a maior parte das células capturadas por meio desta técnica é do epitélio escamoso. Os



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	5/9

Título	MANUAL DE COLETA PARA COVID-19
--------	--------------------------------

ANF, os SNF e as lavagens são aceitos para a cultura, imunofluorescência e detecção de antígeno viral.

Nota: amostras de sangue ou soro não podem ser utilizadas com segurança para diagnóstico de infecção por vírus influenza, não sendo preconizada pelo Ministério da saúde a sua utilização.

6.3 MATERIAIS E REAGENTES

- a) coletores plásticos descartáveis de secreções com volume de 20 ml, acoplado a sonda uretral nº 6 ½ e controle de vácuo ARGYLE ou Equipo de soro para administração parenteral com sonda plástica uretral nº 6 estéril;
- swabs (15 cm) descartáveis com haste flexível e extremidade em poliéster, estéreis, acondicionados individualmente para coleta de espécimes clínicos. Não deverão ser utilizados swabs com haste de madeira e/ou com alginato de cálcio;
- c) tubos cônicos descartáveis de polipropileno transparentes, volume de 15 ml, com tampa de rosca, estéreis;
- d) caixa isotérmica para transporte do material coletado;
- e) EPIs, como luvas, máscaras e aventais descartáveis;
- f) meio de transporte viral;
- g) caneta permanente ou etiqueta com dados mínimos (nome, data de nascimento e/ou códigos de barras com a identificação do exame a ser realizado);
- h) gelo reciclável.

6.4 INDICAÇÃO DE COLETA DE AMOSTRAS

Devem ser coletadas amostras nas unidades sentinelas mediante o cumprimento da definição de caso, oportunidade de coleta (preferencialmente entre o 3º e 7º dia após o início dos primeiros sintomas) a meta é coletar amostras de cinco casos de Síndrome Gripal (SG) por semana epidemiológica em cada unidade sentinela de SG.

A coleta deve ser realizada independente do dia de início dos sintomas em todos os casos de COVID-19 hospitalizados e óbitos, incluindo os casos em unidade de terapia intensiva (UTI) em unidades de saúde.

6.5 COLETA DE ASPIRADO DE NASOFARINGE (ANF)

- com o coletor próprio, aspirar a secreção de nasofaringe das duas narinas. Pode também ser utilizado como coletor um equipo de solução fisiológica, acoplado a uma sonda uretral número 6. A aspiração deve ser realizada com bomba aspiradora portátil ou vácuo de parede; não utilizar pressão de vácuo muito forte;
- b) durante a coleta, a sonda é inserida através da narina até atingir a região da



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	6/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

nasofaringe, quando então o vácuo é aplicado, aspirando a secreção para o interior do coletor ou equipo (Figura 1). Este procedimento deve ser realizado em ambas as narinas, mantendo movimentação da sonda para evitar que haja pressão diretamente sobre a mucosa, provocando sangramento. Alternar a coleta nas duas fossas nasais até obter um volume de aproximadamente 1 mL de secreção. Pacientes febris apresentam secreção espessa. Após nebulização com soro fisiológico a secreção fica mais fluida, abundante e consequentemente mais fácil de ser obtida. Não insistir se a coleta não alcançar o volume desejado (~1mL), pois poderá ocasionar lesão de mucosa.

Flgura 1 llustração da técnica para a coleta de aspirado nasofaríngeo



Fonte: BRASIL, 2014.

- c) durante a coleta, a sonda é inserida através da narina até atingir a região da nasofaringe, quando então o vácuo é aplicado, aspirando a secreção para o interior do coletor ou equipo (Figura 3). Este procedimento deve ser realizado em ambas as narinas, mantendo movimentação da sonda para evitar que haja pressão diretamente sobre a mucosa, provocando sangramento. Alternar a coleta nas duas fossas nasais até obter um volume de aproximadamente 1 mL de secreção. Pacientes febris apresentam secreção espessa. Após nebulização com soro fisiológico a secreção fica mais fluida, abundante e consequentemente mais fácil de ser obtida. Não insistir se a coleta não alcançar o volume desejado (~1mL), pois poderá ocasionar lesão de mucosa;
- d) após aspirar a secreção nasofaríngea com o coletor próprio, inserir a sonda de aspiração no frasco, contendo 3 mL de meio de transporte viral. Aspirar todo o meio para dentro do coletor. Retirar a tampa com as sondas e desprezar como resíduo biológico. Fechar o frasco coletor utilizando a tampa plástica que se encontra na parte inferior do coletor. Vedar esta tampa com plástico aderente tipo Parafilm e manter refrigerado a 4°C (não congelar). Não havendo disponibilidade de Parafilm, vedar o frasco com esparadrapo.
- e) Caso a amostra seja coletada com equipo, não deve ser adicionado o meio de transporte viral. O equipo deve ser colocado em saco plástico, lacrado e identificado. Manter refrigerado a 4°C (não congelar);
- f) As amostras deverão ser encaminhadas ao laboratório, individualizadas em saco plástico, lacrado e identificado adequadamente:



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	7/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

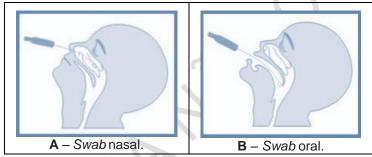
- nome do paciente,
- natureza do espécime,
- data de coleta,
- cópia da ficha de investigação epidemiológica ou equivalente.

Nota: O transporte do espécime ao laboratório deverá ser realizado no mesmo dia da coleta, em caixa de isopor com gelo e/ou caixa isotérmica para transporte de material. Excepcionalmente, o aspirado poderá ser estocado e preservado, refrigerado a 4ºC, por período não superior a 24 h.

6.6 COLETA DE SWABS DE NASOFARINGE (SNF) OROFARINGE (SOF)

- a) na impossibilidade de utilizar a técnica de ANF, como alternativa, poderá ser utilizada a técnica de SNF e SOF, exclusivamente com swab de Rayon;
- deverão ser coletados dois swabs, um swab de orofaringe e um swab de nasofaringe, para ambas narina;
- c) **Swab** de nasofaringe A coleta deve ser realizada com a fricção do *swab* na região posterior do meato nasal tentando obter um pouco das células da mucosa (Figura 2A). Coletar mesmo *swab* nas duas narinas.
- d) **Swab de orofaringe** Colher *swab* na área posterior da faringe e tonsilas, evitando tocar na língua (Figura 2B).

Flgura 2 - Técnica para a coleta de swab combinado



Fonte: BRASIL, 2014.

e) após a coleta, inserir os dois *swabs* em um mesmo tubo de polipropileno (dar preferência para utilização de frasco plástico tentando evitar a ação da RNAse) contendo 3 mL de meio de transporte viral. Lacrar e identificar adequadamente o frasco. Manter refrigerado a 4°C. Excepcionalmente, estes poderão ser estocados e preservados a 4°C, por período não superior a 72 h.

Nota 1: os swabs a serem usados devem ser estéreis e possuir haste de plástico, do tipo rayon.

Nota 2: não deverão ser usados swabs com haste de madeira e/ou com alginato de cálcio, pois os mesmos interferem nas reações utilizadas para diagnóstico molecular e isolamento de



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	8/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

vírus.

6.7 LAVADO BRÔNQUICO (TRAQUEOBRÔNQUICO, BRONCO ALVEOLAR)

Coletar 5 a 10 mL da amostra em tubo estéril em procedimento médico.

Nota: A coleta de lavado brônquico induz a expectoração nos dias seguintes e por isso recomenda-se a coleta sucessiva de escarro.

6.8 ARMAZENAMENTO DE ESPÉCIME CLÍNICO

- a) as amostras não poderão ser congeladas;
- b) as amostras de secreção respiratória devem ser mantidas em temperatura adequada de refrigeração (4°C a 8°C) e encaminhadas ao Lacen, preferencialmente no mesmo dia da coleta.

7. HISTÓRICO DAS REVISÕES

Não se aplica



SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública Gerência de Suporte Laboratorial Núcleo de Recepção

Código	Revisão	Indicação de Controle	Página
MA-LACEN-0007	00	CÓPIA NÃO CONTROLADA	9/9

Título MANUAL DE COLETA PARA COVID-19

ANEXO A - PROCEDIMENTO DE COLETA PARA COVID-19



GOVERNO DO DISTRITO FEDERAL

SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE Subsecretaria de Vigilância à Saúde Diretoria do Laboratório Central de Saúde Pública

PROCEDIMENTO DE COLETA PARA COVID-19

	SwAb de nasoFarInge	SwAb de oroFarInge	aspirado de nasoFaringe
Materiais	Swab do typo rayon; Tubo com meio de transporte viral (1 a 3 mL de meio de transporte viral estéril).	Swab do typo rayon; Tubo com meio de transporte viral (1 a 3 mL de meio de transporte viral estéril).	Coletores plásticos descartáveis de secreções com volume de 20 ml, acoplado a sonda uretral número seis e meio e controle do vácuo ARGYLE ou Equipo de soro para administração parenteral com sonda plástica uretral n° 6 estéril;
			 Tubo com meio de transporte viral (1 a 3 mL de meio de transporte viral estéril).
Procedimentos	 Inclinar a cabeça do paciente; Inserir o swab pela narina até a região posterior do meato nasal; Fazer a coleta friccionando o swab, rodando, tentando obter um pouco das células da mucosa; Colocar no tubo contendo meio de transporte e cortar a parte sobressalente da haste do swab; Colher swab das duas narinas (um swab para as duas narina). 	 Inclinar a cabeça do paciente; Inserir o swab pelaboca; Fazer a coleta friccionando o swab, na parte posterior da faringe e áreas tonsilares, evitando a língua; Colocar no tubo contendo meio de transporte e cortar a parte sobressalente da haste do swab. 	Aspirar a secreção de nasofaringe das duas narinas. utilizar bomba aspiradora portátil ou vácuo de parede; sem pressão de vácuo muito forte; Inserir a sonda através da narina até atingir a região da nasofaringe; Aplicar vácuo, aspirando a secreção; Manter movimentação da sonda para evitar que haja pressão diretamente sobre a mucosa, provocando sangramento; Após aspirar a secreção nasofaringea com o coletor próprio, aspirar todo meio de transporte viral para dentro do coletor; Fechar o frasco coletor utilizando a tampa plástica que se encontra na parte inferior do coletor; Vedar esta tampa com plástico aderente tipo Parafilm ou esparadrapo.

Nota: lavado brônquico (traqueobrônquico, bronco alveolar): procedimento médico. Coletar 5 a 10 mL da amostra em tubo estéril.