

NÚMERO: 004/2014

DATA: 28/04/2014

ASSUNTO: Doença por vírus Ebola – Procedimentos Laboratoriais

PALAVRAS-CHAVE: Procedimentos laboratoriais

PARA: Sistema Nacional de Saúde (instituições públicas e privadas)

CONTACTOS: Laboratório:
Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação, INSA
(biopreparacao@insa.min-saude.pt)¹
DGS:
Unidade de Apoio à Autoridade de Saúde Nacional e à Gestão de Emergências
em Saúde Pública | uesp@dgs.pt

Nos termos da alínea a) do nº 2 do artigo 2º do Decreto Regulamentar nº 14/2012, de 26 de janeiro, emite-se a Orientação seguinte:

De acordo com a diretiva 2000/54/CE o vírus Ebola é classificado como agente de grupo de risco 4. Os procedimentos indicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC) e pelo *European Network for Diagnostic of Imported Viral Diseases* (ENIVD), para a manipulação e diagnóstico laboratorial, preconizam a utilização de um laboratório com as mesmas especificidades dos utilizados para outros agentes infecciosos ou vírus de outras febres hemorrágicas.

1. Condições de Segurança

Os produtos biológicos devem ser considerados de alto risco e a sua colheita e transporte devem cumprir as condições de segurança utilizadas para produtos contendo microrganismos de elevada infecciosidade e patogenicidade. Reforça-se a necessidade do cumprimento das medidas de precaução preconizadas com o objetivo de reduzir o risco de transmissão nosocomial e entre profissionais de saúde. Tendo em consideração o risco elevado associado à manipulação de materiais infecciosos, os exames laboratoriais devem ser limitados ao número de testes estritamente necessários.

Após a colheita e inativação dos produtos biológicos, o procedimento para pesquisa dos ácidos nucleicos do vírus Ebola podem ser efetuados em laboratório de nível de segurança 3 (BSL-3) (reforçando as condições de segurança individuais e minimizando o risco de infeção por via cutânea, quer por picada acidental ou por contacto).

No caso de o resultado ser positivo devem ser suspensos todos os procedimentos analíticos, assim como todas as atividades que envolvam a manipulação dos produtos biológicos para o isolamento de vírus. Nesse caso, a preparação de grelhas e outros substratos para microscopia eletrónica, deteção de antígenos, alguns ensaios serológicos e pesquisa de ácidos nucleicos de *Plasmodium* spp. deverão ser realizadas por um laboratório de referência na União Europeia especializado no diagnóstico de febres hemorrágicas, com nível de segurança biológica 4 (BSL-4).

No caso de o resultado ser negativo, os procedimentos para pesquisa de ácidos nucleicos de *Plasmodium* spp. podem ser realizados localmente.

2. Colheita de Produtos biológicos

Os produtos biológicos colhidos nos casos suspeitos ou prováveis de doença por vírus Ebola devem ser adequados ao diagnóstico laboratorial da infeção por vírus e diagnóstico diferencial de malária (*Plasmodium* spp.). Neste caso recomenda-se que as colheitas sejam efetuadas durante o internamento do doente de acordo com as indicações que a seguir se descrevem. Todos os procedimentos invasivos devem ser reduzidos ao mínimo até o diagnóstico de doença por vírus Ebola ser excluído. Somente as amostras estritamente necessárias aos procedimentos laboratoriais descritos devem ser colhidas na fase aguda da doença. Recomenda-se que sejam evitadas outras colheitas que habitualmente se efetuam para investigação de outras patologias febris.

2.1 Colheita de Sangue

A colheita de sangue deve ser efetuada, preferencialmente, utilizando um sistema de vácuo e para tubos com tampa de rosca, cujo número e tipo depende dos parâmetros analíticos a estudar. O profissional de saúde que realiza a colheita deve utilizar equipamento de proteção individual adequado (ver Orientação nº 003/2014 - Equipamentos de proteção individual para agentes biológicos de tipo 4 disponível em <http://www.dgs.pt/pagina.aspx?f=1&lws=1&mcna=0&inc=&mid=5005&codigoms=0&codigono=683368347965AAAAAAAAAAAA>). Após a colheita, os tubos devem ser bem vedados, a rolha envolvida em parafilme e desinfetados exteriormente com solução de hipoclorito a 1% (preparada a partir de uma solução mãe com 5% de cloro livre). Os tubos utilizados para a colheita de sangue devem ser convenientemente identificados e datados. No doente, após a colheita, deve ser utilizado algodão seco para pressionar o lugar da punção.

2.2 Envio de amostras para o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge IP (INSA)

Os tubos referentes às colheitas para diagnóstico de febre hemorrágica viral são enviados para o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge ao cuidado de Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação. Os tubos devem ser mantidos refrigerados (4°C) até à chegada ao INSA.

2.2.1 Diagnóstico de Febres Hemorrágicas Virais:

Deteção do RNA do vírus Ebola pela técnica de PCR em Tempo Real:

- Para as determinações analíticas a efetuar nesta área deve-se colher 0,5 ml de sangue para um tubo com 2 ml de tampão AVL²;

2.2.2 Diagnóstico diferencial de malária

Se os resultados laboratoriais forem negativos para vírus de febres hemorrágicas deve ser realizado o rastreio de malária:

- Para as determinações analíticas a efetuar nestas áreas colhe-se 3 ml de sangue para 1 tubo com anticoagulante EDTA.

² Tampão AVL é um tampão de lise inativante de vírus se presentes na amostra (Qiagen®)

3. Acondicionamento e Envio dos Produtos Biológicos

O envio dos produtos biológicos deve ser primeiro agendado por telefone (911 000 612 ou 217 519 207) com a Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação do INSA. Os produtos biológicos devem ser acondicionados seguindo as normas de embalagem de substâncias infecciosas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde

(http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf).

A utilização de uma firma certificada e autorizada para efetuar o transporte deste tipo de mercadoria (*Category A, UN 2814, Infectious substances affecting humans*) é obrigatória. O contentor exterior deve ser identificado de forma visível com a designação "Diagnóstico de vírus Ebola" seguida da identificação do laboratório/hospital requisitante. O contentor primário e o secundário têm que ser estanques e o contentor exterior tem que ser rígido.

3.1 Descontaminação das Amostras

Utilizar luvas, descontaminar (preferencialmente dentro de uma câmara de segurança biológica de nível II) o exterior dos tubos de colheita com solução de hipoclorito a 1% (preparada diariamente) seguida de álcool a 70%, de seguida envolver em parafilme.

3.2 Acondicionamento das Amostras

O acondicionamento das amostras deve ser realizado de acordo com o seguinte procedimento (ver figura 1):

- Proceder à descontaminação das amostras como descrito anteriormente no ponto a;
- Colocar luvas limpas;
- Abrir o contentor secundário, preferencialmente dentro da câmara de segurança biológica de nível II;
- Desinfetar o interior do contentor secundário com solução de hipoclorito a 1% seguida de álcool a 70%;
- Introduzir o material absorvente no fundo do contentor secundário;
- Envolver o(s) tubo(s) da(s) amostra(s) (contentor primário) em material amortecedor;
- Colocar o(s) tubo(s) da(s) amostra(s) no contentor secundário;
- Mudar de luvas;
- Fechar o contentor secundário;
- Desinfetar o exterior do contentor secundário com solução de hipoclorito a 1% seguida de álcool a 70%;
- Tirar as luvas;
- Colocar o contentor secundário no contentor exterior;
- Refrigerar as amostras, colocar os termoacumuladores, ou gelo seco, entre o contentor secundário e o exterior;
- Envolver a folha de notificação laboratorial disponível nesta orientação (ver em anexo), devidamente preenchida, dentro de um saco ou mica de plástico e colocá-la dentro do contentor exterior;
- Fechar o contentor exterior;

- Enviar o mais rapidamente para a Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação (INSA).

Deve ser colocado no interior do contentor secundário material absorvente suficiente para absorver a totalidade do conteúdo em caso de derrame. Cada amostra deve ser embalada separadamente em contentores secundários.

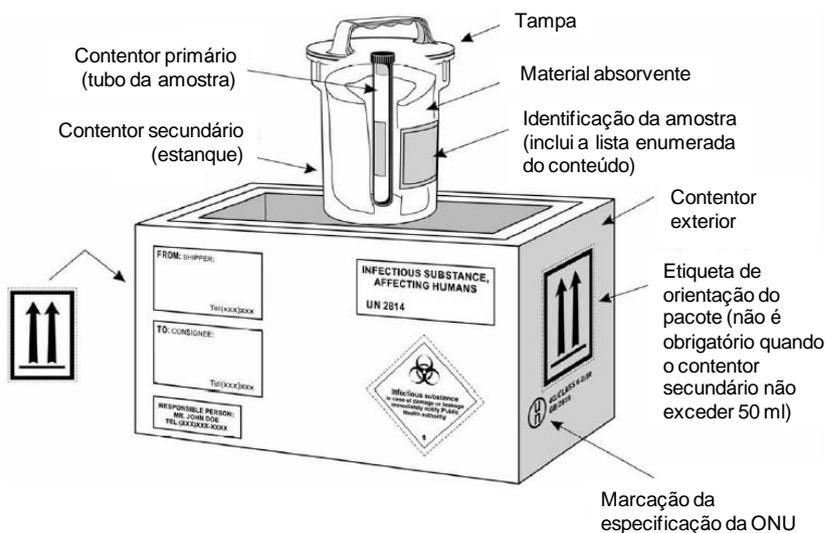


Figura 1: Exemplos do sistema de embalagem tripla para a embalagem e rotulagem dos produtos biológicos para o diagnóstico de febres hemorrágicas virais (categoria A).

4. Referências

- Directiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu
- World Health Organization. A guide for shippers of infectious substances, 2013. Geneva: WHO; 2013. http://www.who.int/ihr/infectious_substances/en/
- European Network for Diagnostics of Imported Viral Diseases. Management and Control of Viral Haemorrhagic Fevers and other highly contagious viral pathogens [internet]. ENVID Scientific Advisory Committee; Available from: <http://www.enivd.de/NETZ.PDF>
- Rapid Risk Assessment do ECDC contém referências para procedimentos laboratoriais <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ebola-guinea-rapid-risk-assessment.pdf>



Francisco George
Diretor-Geral da Saúde

FEBRE HEMORRÁGICA

Folha para notificação e para o envio de produtos biológicos

1. Por favor preencha este formulário e envie junto com os produtos biológicos para:
Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação
Departamento de Doenças Infecciosas
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
Avenida Padre Cruz 1649 – 016 Lisboa
2. Cópia deste formulário deve obrigatoriamente ser enviado para a DGS, para efeitos de notificação, para o seguinte endereço eletrónico: uesp@dgs.pt

DADOS DO DOENTE	
Nome:	
Data de nascimento:	Sexo: <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
Morada:	
Nacionalidade:	Telefone:
Naturalidade:	Profissão:
Data de Admissão no Hospital:	Hora:

DADOS DO MÉDICO	
Nome:	Data da Notificação:
Hospital:	
Telefone:	Email:

1. O doente esteve em contacto com um caso suspeito ou confirmado de Febre Hemorrágica há menos de 21 dias antes do início dos sintomas?

- Não Desconhecido Sim, com caso suspeito Sim, com caso confirmado

se sim, especifique:

- Doente Cadáver Flúidos corporais/tecidos

Data da exposição: _____

Outra informação relevante sobre o contato: _____

2. O doente esteve numa zona endémica de Febres Hemorrágicas há menos de 21 dias antes do início dos sintomas?

Não Desconhecido Sim

se sim, especifique:

País: _____ Cidade: _____ Província: _____

Data da Estadia: desde _____ a _____

Natureza da viagem: Férias Trabalho Outra: _____

Estadia em zonas rurais: Não Sim

Acomodação: Hotel Campismo Outra: _____

Atividades ao ar livre: Não Sim Quais? _____

Contato com animais: Não Sim Natureza? _____

Especifique: _____ Data do contato: _____

Despite de suspeita de Malária: Não Sim

Profilaxia da malária: Não Sim Desconhecido

Se sim, especifique: Qual? _____ Data: _____

3. Sintomas

Sintomas (assinalar todos os existentes)	Data de início:
<input type="checkbox"/> Febre	
<input type="checkbox"/> Diarreia	
<input type="checkbox"/> Fraqueza extrema após reidratação	
<input type="checkbox"/> Náuseas	
<input type="checkbox"/> Vômitos	
<input type="checkbox"/> Dores de garganta	
<input type="checkbox"/> Dores de cabeça	

<input type="checkbox"/> Perda de apetite	
<input type="checkbox"/> Dores musculares	
<input type="checkbox"/> Dores nas articulações	
<input type="checkbox"/> Tosse	
<input type="checkbox"/> Conjuntivite	
<input type="checkbox"/> Dor no peito	
<input type="checkbox"/> Respiração acelerada	
<input type="checkbox"/> Perda recente de audição	
<input type="checkbox"/> Manchas na pele	
Hemorragia, especificar:	Data de início:
<input type="checkbox"/> Vómitos negros ou ensanguentados	
<input type="checkbox"/> Fezes negras ou ensanguentadas	
<input type="checkbox"/> Boca	
<input type="checkbox"/> Nariz	
<input type="checkbox"/> Urina	
<input type="checkbox"/> Pele ou local de perfuração	
<input type="checkbox"/> Outra hemorragia: (especificar)	
Outras observações: (especificar)	Data de início: