

NÚMERO: 015/2014
DATA: 02/09/2014
ATUALIZAÇÃO 13/11/2015

ASSUNTO: Doença por vírus Ébola. Procedimentos laboratoriais para Hospitais de Referência e INSA.

PALAVRAS-CHAVE: Vírus; Ébola; Laboratório; Biossegurança

PARA: Profissionais do Sistema de Saúde

CONTACTOS: Direção de Serviços de Prevenção da Doença e Promoção da Saúde
dspdps@dgs.pt | Unidade de Apoio à Autoridade de Saúde Nacional e à Gestão de Emergências em Saúde Pública uesp@dgs.pt
INSA (Laboratório) – Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação |
biopreparacao@insa.min-saude.pt | Telefone emergência: 911 000 612

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

1. Introdução

De acordo com a diretiva 2000/54/CE o vírus Ébola é classificado como agente biológico de grupo de risco 4. Os procedimentos indicados pela Organização Mundial de Saúde (OMS), pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), pelo *European Network for Diagnostic of Imported Viral Diseases* (ENIVD) e pelo *Quality Assurance Exercise and Networking on the Detection of Highly Infectious Pathogens* (QUANDHIP), para a colheita, manipulação, transporte e diagnóstico laboratorial, preconizam a adoção das medidas de segurança recomendadas para outros agentes infecciosos do mesmo grupo ou outros vírus de febres hemorrágicas.

O diagnóstico molecular do vírus Ébola pode ser efetuado em laboratório de nível de segurança 3 (BSL-3). É necessário ter presente que se devem reforçar as condições de segurança individuais, minimizando o risco de transmissão da infeção por via percutânea, através de mucosas e de procedimentos geradores de aerossóis, usando corretamente equipamento de proteção individual (EPI) de acordo com a Orientação nº 020/2014 “Procedimentos e Equipamento de Proteção Individual (EPI)”.

A partir do momento em que um Caso suspeito é validado passa a Caso provável¹ sendo transportado para um dos Hospitais de Referência².

¹ Consultar Orientação nº 012/2014 “Procedimentos gerais” e Orientação nº 019/2014 “Procedimentos perante um Caso Suspeito/provável/confirmado”

² Os Hospitais de referência para a doença por vírus Ébola são no Porto, o Centro Hospitalar de São João, EPE (adultos e pediatria) e em Lisboa, o Centro Hospitalar de Lisboa Central, EPE: Hospital Curry Cabral (adultos) e Hospital D. Estefânia (pediatria).

Para o diagnóstico de doença por vírus Ébola, os procedimentos laboratoriais do Caso provável ou confirmado **só podem ser realizados no** Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA).

Para efeitos de seguimento do Caso provável ou confirmado, os laboratórios dos hospitais de referência asseguram os restantes exames laboratoriais, os quais devem ser reduzidos ao estritamente necessário.

O vírus Ébola é geralmente detetado por RT-PCR em amostras colhidas entre o 3º e o 10º dia após o início dos sintomas. Em caso de início de sintomas inferior a 3 dias e resultado negativo, será necessário colher nova amostra para exclusão definitiva de infeção por vírus Ébola. Em simultâneo, para excluir outras patologias com sintomatologia semelhante, será realizado o diagnóstico diferencial dos vírus Marburgo e Lassa e de *Plasmodium sp.*

A realização de exames laboratoriais deve efetuar-se de acordo com os protocolos internos do Hospital de referência designado para o efeito, por profissionais devidamente formados, treinados e equipados, nomeadamente no que respeita às regras de manuseamento de amostras e de utilização de analisadores automáticos em sistema fechado, e garantindo que sejam cumpridas as boas práticas laboratoriais de nível 3 e os procedimentos requeridos num laboratório de segurança biológica de nível 2, nomeadamente, a utilização de uma câmara de segurança biológica de classe II, regras de proteção individual referidas, a adequada eliminação de resíduos hospitalares de grupo IV, bem como os procedimentos de desinfeção e limpeza estabelecidos para os equipamentos em causa.

Nos hospitais de referência podem ser feitos testes "*point of care*"³ ou outros testes, nomeadamente para diagnóstico de malária, desde que sejam respeitados todos os procedimentos de segurança acima mencionados.

2. Colheita e conservação de sangue para diagnóstico molecular de Ébola, Malária, Marburgo e Lassa

A colheita e armazenamento de amostras pelos hospitais de referência devem obedecer às seguintes recomendações:

- a) Todo o material utilizado nestes procedimentos, incluindo os EPI específicos para o profissional que executa a colheita⁴, são tratados como resíduos hospitalares do grupo IV;
- b) A colheita de sangue deve ser efetuada utilizando dispositivos médicos corto-perfurantes que incorporem mecanismos de proteção concebidos para o uso seguro dos mesmos (DL 121/2013 de 22 de agosto), utilizando um sistema de vácuo;

³ Testes rápidos realizados à cabeceira do doente

⁴ Consultar Orientação nº 020/2014 "Procedimentos e Equipamento de Proteção Individual (EPI)"



- c) O volume de sangue necessário é de 8 ml que deve ser acondicionado em dois tubos de plástico com EDTA;
- d) Para os casos pediátricos, o volume mínimo de sangue é de 1,2 ml, acondicionado num único tubo de plástico com EDTA;
- e) Após a colheita, os tubos devem ser bem vedados e desinfetados exteriormente, no local da colheita, com solução de hipoclorito de sódio a 5% seguida de álcool a 70%. Por fim a tampa do tubo tem que ser selada com película parafilme (ver ponto 3 desta Orientação);
- f) Colocar os tubos num contentor secundário, mantendo-os na posição vertical, desinfetar o contentor da mesma forma e transportar os tubos até uma câmara de segurança biológica de nível II para proceder ao acondicionamento das amostras;
- g) Os tubos utilizados para a colheita de sangue devem ser convenientemente identificados e datados;
- h) Após a colheita deve ser utilizado algodão seco para pressionar o local da punção;
- i) Se a amostra for enviada para o INSA num período inferior a 24 horas, os tubos têm de ser mantidos refrigerados a 4°C em dupla embalagem até ao envio. No caso de se prever um período de espera superior a 24 horas, as amostras têm de ser congeladas a -70°C.

3. Acondicionamento das amostras para envio para o INSA

Os produtos biológicos devem ser acondicionados nos hospitais de referência, que devem ter protocolos próprios para o efeito, por profissionais devidamente formados, treinados e equipados, seguindo as normas de embalagem de substâncias infecciosas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde⁵ para amostras classificadas como “*Category A, UN 2814, Infectious substances affecting humans*” (ver figura 1).

⁵ http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf

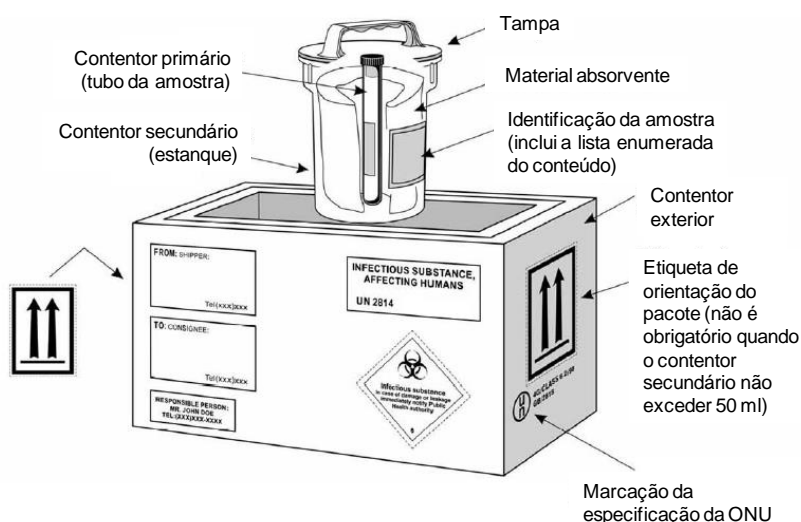


Figura 1: Exemplo de sistema de embalagem tripla para o acondicionamento e a rotulagem dos produtos biológicos para o diagnóstico de febres hemorrágicas virais (categoria A).

O acondicionamento deve cumprir os seguintes procedimentos⁶:

- Proceder à descontaminação dos tubos como descrito anteriormente;
- Remover o par de luvas exterior e colocar um novo par de luvas;
- Abrir o contenedor secundário dentro da câmara de segurança biológica de nível II;
- Desinfetar o interior do contenedor secundário com solução de hipoclorito a 5% seguida de álcool a 70%;
- Envolver o(s) tubo(s) da(s) amostra(s) (contenedor primário) em material amortecedor (por exemplo, plástico bolha, algodão ou outros);
- Colocar o(s) tubo(s) da(s) amostra(s) no contenedor secundário que deve conter material absorvente (por exemplo papel, esponja ou outros) suficiente para absorver a totalidade do conteúdo em caso de derrame;
- Mudar novamente o par de luvas exterior;
- Fechar o contenedor secundário;
- Desinfetar o exterior do contenedor secundário com solução de hipoclorito a 5% seguida de álcool a 70%;
- Remover o par de luvas exterior;
- Retirar o contenedor secundário da câmara de segurança biológica e colocá-lo no contenedor exterior;

⁶ Os técnicos envolvidos nestes procedimentos devem fazer uma formação de acordo com o recomendado pela OMS, disponível em http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2012.12/en/. O INSA disponibiliza esta formação, mediante pedido prévio.



- l) Para as amostras mantidas a 4°C, entre o contentor secundário e o contentor exterior, colocar termoacumuladores. Para as amostras congeladas a -70°C, entre o contentor secundário e o contentor exterior colocar gelo seco;
- m) Imprimir o formulário constante do Anexo 1, envolver dentro de um saco ou mica de plástico e colocá-lo dentro do contentor exterior, que deve ter a marcação da especificação da ONU. Estes contentores, desde que devidamente descontaminados, podem ser reutilizados;
- n) Fechar o contentor exterior (ver figura 1);
- o) Identificar o contentor exterior de forma visível com a designação “Diagnóstico de vírus Ébola” seguida da identificação do Hospital de referência designado;
- p) Preparar o envio para a Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação do INSA.

4. Envio de produtos biológicos

O envio dos produtos biológicos deve ser previamente agendado por telefone (911 000 612 ou 217 519 207) com o INSA/Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação.

O(s) tubo(s) referentes às colheitas para diagnóstico de febre hemorrágica viral são enviados para o INSA ao cuidado da Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação (UREB/INSA, Avenida Padre Cruz, 1649-016 Lisboa), acompanhados do formulário constante do Anexo I como referido no ponto 3.

O transporte da(s) amostra(s) deve ser preferencialmente efetuado por uma firma certificada e autorizada para efetuar o transporte deste tipo de produto biológico (*Category A, UN 2814, Infectious substances affecting humans*).

No entanto, se o centro hospitalar dispuser de transporte próprio, este pode ser utilizado para o envio de amostras ao INSA, desde que se cumpram as indicações de acondicionamento referidas no ponto 3 desta Orientação, sendo estes procedimentos da responsabilidade dos hospitais de referência.

Se forem cumpridas todas as indicações referentes ao acondicionamento das amostras, o contentor exterior não está contaminado, pelo que não é necessário EPI para o seu manuseamento durante o transporte do Hospital de referência para o INSA.

Bibliografia

Canada. Public Health Ontario. Ebola Virus Disease (EVD) - Interim Sample Collection and Submission Guide. August 2014, disponível em:
[http://www.publichealthontario.ca/en/eRepository/Ebola_Virus_Disease_\(EVD\)_Sample_Collection_Submission_Guide.pdf](http://www.publichealthontario.ca/en/eRepository/Ebola_Virus_Disease_(EVD)_Sample_Collection_Submission_Guide.pdf)

CDC Interim Guidance for Specimen Collection, Transport, Testing, and Submission for Patients with Suspected Infection with Ebola Virus Disease, August 2014, disponível em:

<http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/interim-guidance-specimen-collection-submission-patients-suspected-infection-ebola.html>

Directiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu, disponível em: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2000:262:0021:0045:PT:PDF>

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, disponível em: <http://www.enivd.de/NETZ.PDF>

Laboratory precautions for samples collected from patients with suspected VHF Australia 2001, disponível em: [http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-pubs-other-vhf.htm/\\$FILE/vhf_guide.pdf](http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-pubs-other-vhf.htm/$FILE/vhf_guide.pdf)

Public Health England. Sample testing advice for laboratory staff, disponível em: <https://www.gov.uk/government/publications/ebola-sample-testing-advice-for-laboratory-staff>

Rapid Risk Assessment do ECDC contém referências para procedimentos laboratoriais, disponível em: http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/ebola_marburg_fevs/Pages/index.aspx
<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ebola-outbreak-west-africa-1-august-2014.pdf>

World Health Organization. A guide for shippers of infectious substances, 2013. Geneva: WHO; 2013, disponível em: http://www.who.int/ihr/infectious_substances/en/

World Health Organization. How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood pathogens (e. g. Ebola), disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf?ua=1>

World Health Organization. In-Country shipment: How to Safely ship human blood samples from suspected Ebola cases within a country by road, rail and sea, disponível em: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-shipment-en.pdf?ua=1>



Francisco George
Diretor-Geral da Saúde

Cópia deste formulário⁷ é enviada 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

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 CONTACTO PRIVILEGIADO (FAMILIAR/AMIGO/OUTRO)	
Nome:	Contacto telefónico:
Morada:	Observações:

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

1. O doente esteve em contacto com um Caso suspeito ou confirmado de doença por vírus Ébola há menos de 21 dias antes do início dos sintomas?

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

se sim, especifique:

Doente Cadáver Fluídos corporais/tecidos

Data da exposição: _____

Outra informação relevante sobre o contato: _____

2. O doente esteve numa zona afetada por doença por vírus Ébola há menos de 21 dias antes do início dos sintomas?

Desconhecido Não Sim

se sim, especifique:

País: _____ Cidade: _____ Província: _____

Data da Estadia: desde _____ a _____ Chegada a Portugal em ____/____/____

⁷ A notificação à DGS é feita através do SINAVE (notificação obrigatória de doença por vírus Ébola, prevista na Lei nº 81/2009 de 21 de agosto), se Caso confirmado. Em situação de indisponibilidade ou impossibilidade de acesso ao SINAVE, prevista no art. 16º da Portaria nº 248/2013 de 5 de agosto, preencher este formulário e enviar cópia para sinavehelpdesk@dgs.pt.

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 contacto: _____

Suspeita/confirmação de Malária: Não Sim Desconhecido

Profilaxia da malária: Não Sim Desconhecido

Se sim, especifique: Qual? _____ Data: _____

3. Sintomas⁸

Sintomas	Data de início:	Sintomas	Data de início:	Sintomas	Data de início:
<input type="checkbox"/> Febre		<input type="checkbox"/> Odinofagia / disfagia		Hemorragia, especificar:	
<input type="checkbox"/> Astenia		<input type="checkbox"/> Confusão		<input type="checkbox"/> Hematemeses	
<input type="checkbox"/> Anorexia		<input type="checkbox"/> Soluços		<input type="checkbox"/> Retorragias, melenas ou hematoquesias	
<input type="checkbox"/> Vômitos		<input type="checkbox"/> Icterícia		<input type="checkbox"/> Gengivorragia	
<input type="checkbox"/> Diarreia		<input type="checkbox"/> Dor ocular		<input type="checkbox"/> Epistáxis	
<input type="checkbox"/> Cefaleias		<input type="checkbox"/> Exantema		<input type="checkbox"/> Hematúria / metrorragia	
<input type="checkbox"/> Dor abdominal		<input type="checkbox"/> Prostração / coma		<input type="checkbox"/> Hemoptises	
<input type="checkbox"/> Mialgias		<input type="checkbox"/> Conjuntivite		<input type="checkbox"/> Local de punção ou equimoses	
<input type="checkbox"/> Artralgias		<input type="checkbox"/> Faringe hiperemiada		<input type="checkbox"/> Outra hemorragia: (especificar)	
<input type="checkbox"/> Dor no peito				Outras observações: (especificar)	
<input type="checkbox"/> Tosse					
<input type="checkbox"/> Dificuldade respiratória					

⁸ Assinalar todos os existentes