

**Actualizado em 21-09-2009\***

## **Colheita de produtos biológicos destinados à investigação laboratorial virológica\***

### **1. Condições de segurança**

Os produtos biológicos colhidos a doentes **com síndrome gripal** devem cumprir as condições de segurança, segundo as recomendações gerais descritas nos documentos actualizados da Organização Mundial da Saúde (OMS), “Guidance on Regulation for Transport of Infectious Substances” (WHO/HSE/EPR/2008.10).

Reforça-se a necessidade do cumprimento das medidas de protecção individual (documento **Gripe OT-11**), com o objectivo de reduzir o risco de transmissão nosocomial.

### **2. Informações gerais**

O diagnóstico laboratorial virológico das infecções respiratórias depende da qualidade dos produtos biológicos colhidos, do **seu transporte em tempo adequado ao laboratório** e acondicionamento apropriado.

A excreção de vírus da gripe pandémica (H1N1) 2009 faz-se essencialmente pelo tracto respiratório, pelo que o diagnóstico virológico deste agente é realizado, preferencialmente, em amostras que contenham células epiteliais infectadas do tracto respiratório e em secreções.

Recomenda-se que as primeiras colheitas sejam efectuadas preferencialmente nos 3 primeiros dias após o início dos sintomas clínicos.

As investigações laboratoriais relativas ao vírus da gripe pandémica (H1N1) 2009 são coordenadas pelo Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe, no Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, no âmbito da Rede Nacional de Laboratórios para o diagnóstico da infecção pelo vírus da gripe pandémica (H1N1) 2009 <sup>1</sup>.

Os resultados laboratoriais confirmados são comunicados de imediato, pelo laboratório, por e-mail, para o serviço requisitante, excepto os que tiverem sido efectuados por amostragem que serão posteriormente analisados para fins epidemiológicos.

<sup>1</sup> Despacho nº 16.548/2009, publicado no *Diário da República*, 2ª série – Nº 139, de 21 de Julho.

**Actualizado em 21-09-2009\***

### 3. Produtos biológicos

Os produtos biológicos devem, preferencialmente, ser refrigerados a 4°C.

Todas as amostras devem ser acompanhadas do formulário **Gripe OT- 4.1**, bem como da requisição de exames laboratoriais.

Os produtos biológicos para o diagnóstico laboratorial devem ser colhidos de acordo com a seguinte ordem de prioridade:

#### 1º) Tracto respiratório superior

É aconselhável o envio de duas amostras: **exsudado (ou aspirado) nasofaríngeo e exsudado da orofarínge**. Caso não seja possível deve ser colhido **exsudado nasal**.

#### 2º) Tracto respiratório inferior

No caso de doentes entubados ou submetidos a broncoscopia - **aspirado endotraqueal e/ou lavado brônquico e/ou lavado bronco-alveolar**.

Em situação de **post-mortem** pode ser colhido tecido da traqueia ou do pulmão (por incisão ou agulha) e, quando possível, das margens dos infiltrados intersticiais. Se o tubo endotraqueal estiver colocado pode também ser colhido um aspirado endotraqueal.

#### 3º) Sangue

A colher na fase aguda e convalescente da doença (pelo menos 10 a 14 dias após a primeira colheita).

### 4. Material de colheita e transporte

#### 4.1. Material para os diferentes tipos de colheita

- Recipiente colector de muco em plástico, esterilizado;
- Zaragatoas (**meio de transporte adequado à preservação de vírus**). Não devem ser utilizadas zaragatoas com haste de madeira (podem conter inibidores ou substâncias que destroem as partículas virais).
- Tubos plásticos e cateteres;
- Espátula para compressão da língua;
- Tubos secos;
- Sistema de colheita de sangue.

Deve identificar-se cada um dos tubos com as iniciais do nome do doente (ou primeiro e último nome) e com a data da colheita.

**Actualizado em 21-09-2009\***

## 4.2. Meio de transporte para exsudados colhidos com zaragatoa

As zaragatoas devem ser enviadas em **meio de transporte adequado à preservação de vírus**, respeitando as indicações do fabricante. Para esclarecimentos adicionais deverá contactar o Laboratório Nacional de Referência da Gripe do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA).

## 5. Procedimentos de colheita

### 5.1. Exsudado da nasofaringe / exsudado nasal colhidos em zaragatoa

**Exsudado da nasofaringe** - utilizar uma zaragatoa com uma haste fina e flexível que se introduz 5 a 6 cm, seguindo a base interior da narina na direcção da região posterior da nasofaringe.

**Exsudado nasal** - introduzir a zaragatoa na narina paralelamente ao palato e deixar nessa posição alguns segundos de forma a absorver as secreções. Em seguida, introduzir um pouco mais fundo na mucosa nasal (2 a 3 cm no adulto e até o doente lacrimejar) e rodar ligeiramente a zaragatoa.

### 5.2. Exsudado da região posterior da orofaringe colhido em zaragatoa

Desviar e comprimir a língua com uma espátula e solicitar que o doente verbalize “aaa” de forma a elevar a úvula. Com o algodão da extremidade da zaragatoa esfregar extensamente a parede faríngea e os pilares da orofaringe (Figura 1). Evitar esfregar o palato mole ou tocar com a zaragatoa na língua para não provocar o vómito.

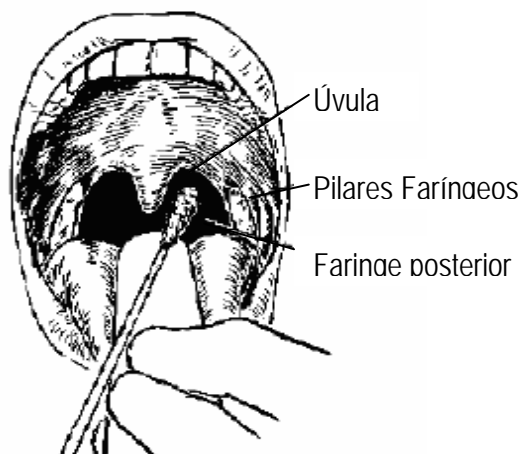


Figura 1 - Esquema da colheita de exsudado da região posterior da orofaringe, com zaragatoa

**Actualizado em 21-09-2009\***

### 5.3. Aspirado da nasofaringe

As secreções da nasofaringe são aspiradas através de um cateter ligado a um recipiente plástico, colectador de muco, ajustado a uma fonte de vácuo. O cateter é inserido numa das narinas paralelamente ao palato (Figura 2). **A fonte de vácuo é ligada e o cateter é retirado lentamente, induzindo um movimento de rotação.** O muco da outra narina é colhido com o mesmo cateter utilizando um procedimento idêntico. Nas crianças, este tipo de colheita é mais fácil e seguro do que a colheita de exsudados em zaragatoa.



Figura 2 - Esquema da colheita de aspirado da nasofaringe

### 5.4. Sangue / Soro

Para estudo serológico, na fase aguda da doença, devem ser colhidos, no adulto e adolescente 3 a 5 ml de sangue em tubo seco, **e nas crianças 2 ml**, o mais precocemente possível, após o início dos sintomas.

**Na fase de convalescença, deve ser programada e realizada uma segunda colheita, entre o 10º e o 14º dia após o início dos sintomas.**

A colheita de sangue deve ser efectuada, preferencialmente, utilizando um sistema de vácuo e para tubos com tampa de rosca cujo número e tipo depende dos parâmetros analíticos a estudar.

#### 5.4.1. Separação do soro

**Para a separação do soro a centrifugação deve ser realizada a 3.000 rpm, durante, pelo menos, 5 minutos. No entanto, as amostras de sangue podem ser enviadas sem centrifugação prévia.**

##### 5.4.1.1. Utilização de tubos específicos para a separação do soro

Estes tubos contêm um gel (com uma densidade intermédia entre as células vermelhas e o plasma) e usualmente também um activador da coagulação.

**Actualizado em 21-09-2009\***

Após a colheita do sangue deve agitar-se o conteúdo do tubo e, em seguida, permitir a formação do coágulo. Procede-se depois a uma centrifugação que, à semelhança dos passos anteriores, deve seguir escrupulosamente as instruções do fabricante. Na região superior do tubo localiza-se o soro, separado do coágulo pela barreira de gel (Figura 3).

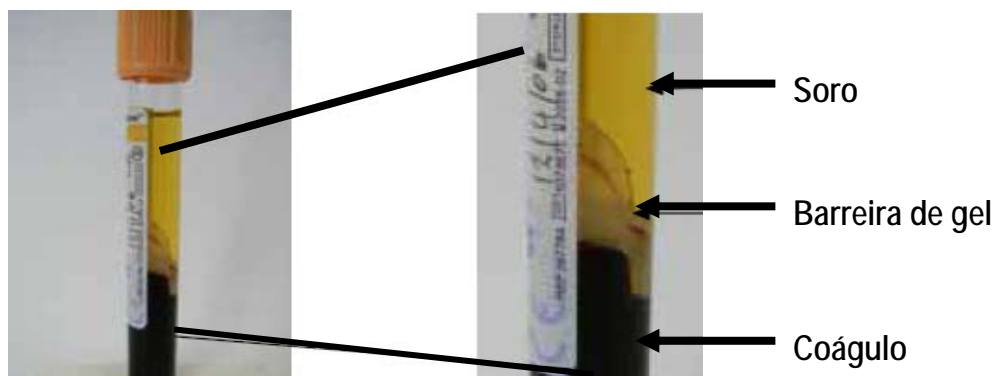


Figura 3 - Resultados da separação do soro em tubos específicos, após centrifugação.

#### 5.4.1.2. Utilização de outros tubos

Quando se utilizam tubos secos (sem qualquer aditivo) a separação do soro pode processar-se depois de um período de repouso que não deve exceder as 12 horas e que permitirá a retracção do coágulo.

Após a separação do sangue, o soro deve ser colocado num novo tubo, de preferência um criotubo, com tampa de rosca externa e com sistema de fecho em *O-ring* sobre a qual se pode colocar *parafilm*.

## 6. Acondicionamento e envio

Após as colheitas, os tubos devem ser bem vedados, as rolhas envolvidas em *parafilm* e, seguidamente, desinfectados exteriormente com solução de hipoclorito de sódio a 0,5%.

Os produtos biológicos, devidamente identificados, devem ser acondicionados seguindo as normas de embalagem de substâncias infecciosas (Figura 4) e as condições de transporte cujas instruções detalhadas podem ser consultadas no documento actualizado da OMS, "Guidance on Regulation for Transport of Infectious Substances" (WHO/HSE/EPR/2008.10).

Uma cópia do formulário que consta do documento **Gripe OT-4.1** (que será [simplificado e permitirá utilização electrónica](#)) e a respectiva requisição de exames, devem ser colocadas entre o contentor externo e a cartonagem, preferencialmente dentro de uma folha plástica.

**Actualizado em 21-09-2009\***



Figura 4 - Embalagem de substâncias infecciosas para transporte ao laboratório.

O transporte de amostras ao laboratório deve ser feito, o mais rapidamente possível, através dos meios que a unidade de saúde entender, desde que sejam cumpridos os critérios de conservação e de segurança adequados para este tipo de amostras.

Na embalagem exterior deve ser assinalado de forma bem visível a designação **GSH** seguida do endereço do laboratório, a que se destina.

Para esclarecimento de qualquer dúvida resultante da leitura deste documento deve ser contactada a Dra. Raquel Guiomar através do telefone nº 21 752 6455 ou 21 751 9216.

Documento elaborado pelo Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe, INSA, em colaboração com o Grupo Operativo da Gripe da Direcção Geral da Saúde.