

Biossegurança laboratorial na pandemia do SARS-CoV-2

Laboratory biosafety in the SARS-CoV-2 pandemic

Flávia Martinello

Resumo

Devido à emergência do SARS-CoV-2, os laboratórios necessitaram se adequar na mesma velocidade em que a pandemia se instalou para atender com segurança à crescente demanda pelos testes diagnósticos. Com o alto potencial de disseminação do vírus, o contato com pacientes e o manuseio laboratorial das amostras tornou-se um desafio sem precedentes para os laboratórios. A necessidade de práticas de biossegurança nunca foi globalmente tão enfatizada como nas circunstâncias atuais da pandemia. O objetivo desta revisão narrativa foi destacar medidas para prevenção da contaminação pelo SARS-CoV-2 nos laboratórios clínicos, utilizando como referência a literatura publicada em livros, artigos científicos, orientações técnicas de autoridades sanitárias e científicas, e na análise crítica e pessoal da autora. Alguns temas abordados foram: compreensão dos riscos, medidas de biossegurança, níveis de biossegurança, barreiras de contenção, uso correto dos equipamentos de proteção individual (EPI), desinfecção das áreas de laboratório, descarte seguro de resíduos, e biossegurança nas fases pré-analítica e analítica. As orientações são baseadas em evidências limitadas e frequentemente fracas, oriundas de opiniões, estudos observacionais ou extrapolações de epidemias anteriores causadas por outros coronavírus. As boas práticas de biossegurança destacadas foram estabelecidas muito antes do surgimento da COVID-19. No entanto, a pandemia trouxe à tona, aos profissionais de laboratório e à população em geral, boas práticas que estavam esquecidas, como a higienização das mãos, a etiqueta respiratória e a forma correta de paramentação e desparamentação dos EPI. Na pandemia, os laboratórios com poucos recursos necessitaram adaptar soluções seguras e econômicas para garantir a segurança laboral.

Palavras-chave

Biossegurança; COVID-19; SARS-CoV-2; pandemia; laboratórios; equipamento de proteção individual (EPI)

INTRODUÇÃO

Com a emergência do novo Coronavírus (SARS-CoV-2), os laboratórios necessitaram se adequar na mesma velocidade da pandemia para atender com segurança à crescente demanda pelos testes diagnósticos.

Na maioria dos casos, o SARS-CoV-2 é transmitido de humano para humano por inalação ou deposição de aerossóis ou gotículas respiratórias nas superfícies mucosas. Outras rotas identificadas são o contato com fômites contaminados pelo vírus, por meio das próprias mãos.⁽¹⁻³⁾

A propagação de gotículas é dependente de fatores como o tamanho das partículas, a velocidade do ar expirado, as condições de temperatura e umidade ambiente.⁽⁴⁾ As gotículas respiratórias grandes caem a uma distância de aproximadamente 1 m do indivíduo durante a respiração normal e conversação. Tossir ou espirrar aumenta a

distância de propagação para 2 m e 6 m, respectivamente.⁽⁴⁾ Após uma tosse ou espirro, as gotículas maiores percorrem uma distância maior, mas se depositam rapidamente, e 50% das gotículas são aerossolizadas podendo permanecer no ar por períodos mais longos e ser transportadas por distâncias até pouco mais de 1 m.⁽⁵⁾ Esses dados fundamentam o distanciamento social de pelo menos 2 m⁽⁵⁾ recomendado pela Organização Mundial da Saúde, e tanto quanto possível, inclusive, dentro de estabelecimentos de saúde como os laboratórios clínicos.⁽²⁾

Como o vírus possui um potencial excepcionalmente alto de disseminação, o contato com pacientes e o manuseio laboratorial seguro das amostras tornou-se um desafio sem precedentes para os laboratórios em todo o mundo.⁽¹⁾ Um aspecto importante, destacado por muitas organizações de saúde, é que a pandemia de COVID-19 pode ser especialmente perigosa para os profissionais de saúde.^(2,6)

Professora do Departamento de Análises Clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis-SC, Brasil.

Instituição: Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Florianópolis-SC, Brasil.

Recebido em 03/08/2020
Artigo aprovado em 17/08/2020
DOI: 10.21877/2448-3877.20200011

A necessidade de práticas de biossegurança nunca foi globalmente tão enfatizada como nas circunstâncias atuais da pandemia.⁽¹⁾ Biossegurança é a ciência voltada para a prevenção, controle, minimização ou eliminação de riscos de dano ou acidente advindos da prática em laboratório para proteção da saúde humana, animal, do meio ambiente e da qualidade dos trabalhos desenvolvidos.⁽⁷⁾ Práticas de biossegurança laboratorial é a aplicação dos conhecimentos, técnicas e equipamentos para mitigar o risco, nesse caso envolvido no manuseio da amostra biológica, e propiciar um ambiente laboral seguro.⁽¹⁾

O objetivo desta revisão narrativa foi destacar medidas para prevenção da contaminação pelo SARS-CoV-2 nos laboratórios clínicos, utilizando como referência a literatura publicada em livros, artigos científicos, orientações técnicas de autoridades sanitárias e científicas, na análise crítica e pessoal da autora. Alguns temas abordados foram: compreensão dos riscos, medidas de biossegurança, níveis de biossegurança, barreiras de contenção, uso correto dos equipamentos de proteção individual (EPI), desinfecção das áreas de laboratório, descarte seguro de resíduos e biossegurança nas fases pré-analítica e analítica.

Medidas de biossegurança

A definição das práticas de biossegurança irá depender da respectiva avaliação de risco de cada laboratório. A avaliação de risco envolve a análise crítica de todo o processo laboratorial (coleta e recebimento das amostras, testes de rotina, testes moleculares, descarte de amostras, etc.) e relação de todos os perigos.⁽²⁾ Para cada perigo estima-se a chance e as consequências da exposição ao mesmo, seguida das medidas de controle apropriadas para reduzir os riscos a níveis aceitáveis.^(1,3,6,8,9)

É importante observar que os perigos, isoladamente, não representam risco ao indivíduo. O risco só existe se há exposição. Portanto, os equipamentos e procedimentos utilizados devem ser considerados na análise do risco, pois podem aumentar ou diminuir o mesmo. Um mesmo perigo pode estar presente em mais de uma etapa, por exemplo, a exposição a aerossóis ou respingos.^(1,3,8) Em ordem crescente de eficiência, as estratégias para controle do risco são: utilização de equipamentos de proteção individual (EPI), medidas administrativas (como normas e sinalizações de segurança), soluções de engenharia (isolar a equipe do perigo), substituir e eliminar o perigo (essas duas últimas não são possíveis no caso da pandemia, cujo perigo é o SARS-CoV-2).⁽¹⁰⁾

Entre as medidas de biossegurança, a estratégia de distanciamento social dentro do laboratório pode reduzir as infecções por SARS-CoV-2 entre os colaboradores. O distanciamento pode ser alcançado separando os profissionais em duas (ou mais) equipes (escala de trabalho de

12 horas com folga de 36 horas), de modo que as equipes não tenham contato. As estações de trabalho no laboratório podem ser espaçadas. A equipe que avalia/valida os resultados, que avalia o controle da qualidade ou realiza tarefas mais administrativas pode ser removida do espaço do laboratório e fazer o trabalho em um espaço de escritório ou remotamente. Recomenda-se que o uso dos espaços de refeição seja escalonado para evitar a reunião do grupo. A educação continuada e os treinamentos também devem ser realizados de forma remota.^(1,9) A política de imunização contra a gripe também fornece proteção aos colaboradores do laboratório e reduz a suspeita de infecção por SARS-CoV-2 na equipe em situações de emergência.⁽³⁾

Durante a pandemia da COVID-19, todas as amostras coletadas para testes de diagnóstico *in vitro* devem ser consideradas potencialmente infecciosas com SARS-CoV-2. Portanto, os profissionais de laboratório devem seguir rigorosamente as boas práticas laboratoriais em microbiologia e as precauções padrão para minimizar o risco de exposição ao vírus, como a utilização de calça comprida, sapato fechado, cabelo preso e não utilização de adornos.^(2,11)

A higiene frequente das mãos e evitar tocar os olhos, nariz e boca são medidas universalmente recomendadas, às quais a equipe do laboratório também deve aderir.⁽²⁾

Nível de biossegurança

Os agentes biológicos que afetam o homem, os animais e as plantas são classificados conforme o risco que oferecem em Classes de Risco de 1 a 4. A primeira inclui agentes que não oferecem risco para os indivíduos e comunidade e há tratamento e profilaxia disponíveis, e a última inclui agentes que oferecem altíssimo risco individual e altíssima capacidade de propagação na comunidade para os quais não há medidas profilática e terapêutica disponíveis.⁽⁷⁾ O SARS-CoV-2, à semelhança dos demais membros da família Coronaviridae, é classificado como microrganismo de Classe de Risco 3.^(7,8)

Para trabalho em contenção dos agentes biológicos há quatro níveis de biossegurança (NB) de laboratórios. Geralmente o NB é proporcional à classe de risco do agente, porém, certos procedimentos ou protocolos experimentais podem exigir um maior ou menor grau de contenção.⁽⁷⁾ Os NB dos laboratórios predizem as características de construção, projeto, equipamentos, instalações de contenção, práticas padrão e técnicas operacionais, garantindo a execução de atividades com agentes infecciosos de diferentes grupos de risco.^(7,12)

No caso do SARS-CoV-2, testes laboratoriais de rotina em espécimes de soro ou sangue, manipulação de vírus lisados, fixados, partes não infecciosas do genoma, embalo de amostras biológicas para diagnóstico e outras

atividades não propagativas (por exemplo, sequenciamento, teste de amplificação de ácidos nucleicos) requerem que o laboratório apresente estrutura equivalente ao NB2 e sejam realizadas em cabine de segurança biológica utilizando as precauções padrão. As atividades consideradas propagativas, como culturas virais, isolamento viral ou testes de neutralização devem ser realizadas em um laboratório de contenção com fluxo de ar direcional (pressão negativa de ar) equivalente a NB3.^(7,8,12)

Barreiras de contenção

Cabine de Segurança Biológica (CSB)

A CSB é o principal equipamento de contenção física para agentes infecciosos e, dependendo do tipo, protege o material e/ou o profissional e os ambientes interno e externo por filtração do ar com filtros de alta eficiência do tipo HEPA.⁽¹³⁾

A CSB de Classe I protege o profissional e o ambiente. Existem quatro subtipos de CSB Classe II que protegem o profissional, o produto e o ambiente. Nas cabines A1 e A2, 70% do ar recircula na câmara e 30% são expelidos após passagem pelo filtro HEPA. A diferença entre elas está na velocidade de circulação do ar, que é menor na primeira. Na cabine B1 apenas 30% do ar recircula e 70% são expelidos, e na cabine B2 100% do ar é expelido para o exterior. A CSB Classe III fornece o mais alto nível de proteção ao profissional, produto e ambiente, pois são cabines fechadas com acesso à área de trabalho por grandes luvas e caixa de passagem para entrada do material antes do início das atividades.⁽¹³⁾

Todos os procedimentos com amostras clinicamente suspeitas ou confirmadas com SARS-CoV-2 devem ser realizados em CSB Classe II tipo A2. A Organização Mundial da Saúde (OMS) aprova o uso de CSB Classe I como uma alternativa que protege o trabalhador quando a proteção da amostra não é a prioridade.^(1,13) Para aquisição, a diferença de custo é insignificante entre as duas.⁽¹⁾

Alerta-se para os laboratórios que utilizam erroneamente cabines de fluxo laminar (câmaras de escoamento de ar horizontais e verticais) para manipular amostras biológicas, estas protegem apenas o produto, são mais perigosas, pois expõem a equipe do laboratório diretamente ao fluxo de ar que carrega potenciais aerossóis carregados com risco biológico.^(1,13)

O uso e a manutenção corretos da CSB são essenciais para garantia da qualidade das atividades. O profissional deve estar paramentado com todos os EPI necessários ao utilizar uma CSB.

Equipamentos de Proteção Individual (EPI)

EPI é todo dispositivo de uso individual utilizado pelo trabalhador destinado à segurança laboral. Para ser consi-

derado EPI, o dispositivo deve ter o Certificado de Aprovação (CA) expedido pelo órgão nacional competente para que se possa responsabilizar legalmente o fabricante caso este apresente alguma falha ou defeito.⁽¹⁴⁾ É interessante destacar que o jaleco (também conhecido por avental e guarda-pó) que não apresentar CA deve ser tratado como vestimenta ou uniforme.

Embora os EPI sejam considerados como uma estratégia de prevenção primária, não deve ser alternativa única para a prevenção da transmissão do vírus SARS-CoV-2. A eficácia dos EPI depende do manuseio adequado, treinamento para colocação e retirada, prática de higiene das mãos e comportamento humano, o qual pode representar um risco até maior do que o próprio agente biológico.^(1,3) O uso racional, correto e consistente dos EPI disponíveis e a higienização das mãos durante todo o turno de trabalho ajudam a reduzir a disseminação dos patógenos.^(2,3)

Para as atividades não propagativas com amostras biológicas recomenda-se a utilização de avental à prova d'água e dos seguintes EPI: máscara facial e óculos de proteção ou protetor facial tipo viseira (*face shield*) e luvas descartáveis.^(3,8)

Para as atividades propagativas com amostras biológicas, além dos EPI utilizados em atividades não propagativas, recomenda-se a utilização de aventais descartáveis com gramatura mínima de 30 g/m² de fechamento traseiro, touca e sapatilhas descartáveis (propé).^(3,8)

A máscara de proteção respiratória com eficácia mínima de 95% na filtração de partículas de até 0,3µ (sistema americano: tipo N95, N99, N100 e sistema europeu: peça facial filtrante PFF 2 ou PFF3) deve ser utilizada pelo profissional da saúde que for atuar em procedimentos de pacientes clinicamente suspeitos ou infectados com a COVID-19 com risco de geração de aerossóis. Se a máscara de proteção respiratória estiver íntegra, limpa e seca, poderá ser usada várias vezes durante o mesmo plantão, pelo mesmo profissional, por até 12 horas ou conforme definido pelo serviço de saúde. Excepcionalmente, em situações de falta de materiais para atender demanda da pandemia da COVID-19, a máscara respiratória N95 ou equivalente poderá ser reutilizada pelo mesmo profissional da saúde, desde que siga rigorosamente as recomendações para retirada adequada desta máscara. Para minimizar a contaminação da máscara respiratória poderá ser utilizado o protetor facial.^(1,15)

A máscara N95 ou PFF2 com válvula de exalação facilita a saída do ar exalado, entretanto, também a passagem de gotículas. Portanto, protege o profissional, mas não o paciente.⁽¹⁶⁾

A máscara N95 é a maneira mais eficaz, entre as opções disponíveis, de proteção respiratória. Embora a N95 limite a transmissão de vírus, ainda não o bloqueia com-

pletamente. Ao mesmo tempo, não significa que a transmissão do vírus resultará na transmissão da infecção. Pessoas com barba não são protegidas de aerossóis, mesmo que usem máscaras N95.^(1,17) O uso de máscara é recomendado mesmo quando trabalhando na CSB.⁽²⁾

As máscaras cirúrgicas não são tão eficientes como equipamento de proteção respiratória,^(1,17) mas podem ser uma medida alternativa ao distanciamento social quando este se torna impraticável entre os colaboradores. Nesse caso, qualquer tipo de máscara facial será eficaz para evitar o contágio inter-humano na possível circunstância de um profissional de laboratório estar infectado pelo SARS-CoV-2.⁽²⁾

Os protetores faciais oferecem melhor ergonomia em comparação com os óculos de segurança. O uso de óculos com máscaras geralmente resulta no acúmulo de névoa ao redor dos óculos em pouco tempo, dificultando a visão. As viseiras e óculos de proteção podem ser reutilizados após a desinfecção apropriada. Nesse momento de escassez no mercado devido à pandemia é compreensível a adaptação de EPI como a *face shield*.⁽¹⁾

Como vestimenta, se forem utilizados jalecos de algodão, os mesmos devem ser retirados adequadamente e descontaminados após cada uso antes da lavagem e reutilização. Os jalecos descartáveis são a melhor opção para o vestuário dos profissionais de saúde. No entanto, devido à escassez durante a pandemia, aventais de plástico descartáveis também podem ser usados.⁽¹⁾

Calçar luvas de procedimentos é uma questão relativamente fácil, mas a retirada descuidada após exposição ao risco pode representar uma ameaça de transmissão da infecção.^(1,17)

Uma pesquisa demonstrou que o maior desafio relatado por laboratórios clínicos durante a pandemia do COVID-19 foi a garantia de EPI suficientes. Entre outras dificuldades também foi relatado o uso e o descarte incorreto de EPI.^(17,18)

Higienização do laboratório

As evidências atuais sugerem que o SARS-CoV-2 pode permanecer viável por horas e até dias em determinadas superfícies, dependendo do tipo de material. Portanto, a limpeza de objetos e superfícies, seguida de desinfecção, são medidas recomendadas para a prevenção da COVID-19 e de outras doenças respiratórias virais em ambientes comunitários.

Limpeza – refere-se à remoção de germes, sujeiras e impurezas das superfícies. A limpeza não mata os germes, mas, ao removê-los, diminui o número e o risco de propagação da infecção.

Desinfecção – refere-se ao uso de produtos químicos para matar germes em superfícies. Esse processo não

limpa necessariamente superfícies sujas ou remove microrganismos, mas, ao matar germes em uma superfície após a limpeza, pode reduzir ainda mais o risco de propagação de infecções.⁽¹⁹⁾

A descontaminação de bancadas de trabalho, instrumentos e superfícies frequentemente tocadas no laboratório como maçanetas, refrigeradores, freezers, telefones, telas sensíveis ao toque, teclados, mouse, etc. deve ser realizada com mais frequência, a cada três horas ou quando houver qualquer derramamento. Considerando que a camada externa do envelope dos coronavírus é facilmente destruída, os produtos apropriados para assepsia são etanol a 70%, glutaraldeído a 2% ou hipoclorito de sódio com concentração de cloro 0,05% (500 ppm).^(2,20)

Os equipamentos de laboratório, tomadas elétricas e interruptores não devem ser desinfetados com hipoclorito devido ao poder oxidante e corrosivo do mesmo. Toalhas de papel embebidas com álcool 70% são preferíveis nesses casos, e os equipamentos elétricos devem estar desconectados da fonte de alimentação durante a desinfecção. Paredes e pisos não requerem desinfecção e podem ser limpos com água e sabão comuns, exceto em caso de derramamento de material biológico. Nesse caso, os mesmos produtos de desinfecção das bancadas são recomendados.⁽¹⁾

Em caso de derramamento de material infectante, o equipamento ou área devem ser isolados e procedida a desinfecção. Caso seja no chão, cobrir o local de derramamento com material absorvente (papel toalha) para minimizar a área afetada e a produção de aerossóis. Cobrir o local com cloro ativo 2%, de forma concêntrica, iniciando pelo exterior da área de derrame e avançando para o centro. Deixar em repouso pelo menos trinta minutos para ação do desinfetante. Retirar os materiais envolvidos no acidente, inclusive objetos cortantes, utilizando uma pinça ou um pedaço de cartão rígido para recolher o material e colocá-lo em um recipiente resistente para descarte final.^(2,6)

Ácido peracético (2 g/L) ou H₂O₂ 3% ou dióxido de cloro 100 mg/L podem ser usados para fumigar o laboratório durante a noite, ou desinfetante em aerossol pode ser pulverizado a cada uma a duas horas.^(2,6)

Gerenciamento de resíduos

O descarte seguro de sobras de amostras de pacientes com COVID-19 tem sido um aspecto preocupante nos laboratórios.⁽¹⁾ Segundo o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC), atualmente não há evidências que sugiram que esse resíduo de laboratório precise de procedimentos adicionais de embalagem ou desinfecção. Portanto, os laboratórios devem proceder ao descarte das sobras de amostras de acordo com as diretrizes locais de segurança,^(1,21) atualmente a RDC 222/2018.⁽²²⁾

Segundo a RDC 222/2018, as sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos, bem como as culturas, estoques de microrganismos, os meios de cultura e os instrumentos utilizados para transferência ou inoculação de microrganismos da classe de risco 3 são classificados como resíduos do Grupo A1. No entanto, os últimos devem ser tratados na unidade geradora e os primeiros antes da disposição final, podendo ou não ser no laboratório. Caso seja tratado na unidade geradora ou no serviço, devem ser acondicionados em sacos brancos leitosos. Caso o tratamento venha a ser realizado fora da unidade geradora ou do serviço, estes resíduos devem ser acondicionados em saco vermelho e transportados em recipiente rígido, impermeável, resistente à punctura, ruptura, vazamento, com tampa com controle de fechamento e identificado. O tratamento deve atender ao nível III de inativação microbiana, por exemplo, a autoclavação.⁽²²⁾

Entretanto, caso seja permitido pelos órgãos ambientais e pelos serviços de saneamento competentes, as sobras de amostras de laboratório contendo sangue ou líquidos corpóreos podem ser descartadas diretamente no sistema de coleta de esgotos.⁽²²⁾

Um estudo demonstrou que apenas um quarto dos laboratórios pesquisados declarou autoclavar amostras de sangue antes do destino final. Os autores sugerem que, durante a pandemia, amostras de alto risco, como amostras respiratórias, devem ser desinfetadas ou autoclavadas logo após a análise.^(6,23)

Biossegurança na fase pré-analítica

Atendimento ao público em geral

As máscaras cirúrgicas devem ser usadas pelos profissionais em área de atendimento a pacientes. Em relação ao tempo de uso, é recomendada a troca da máscara cirúrgica pelo profissional nos serviços de saúde a cada duas a quatro horas devido ao risco de contaminação da mesma. Entretanto, devido à pandemia da COVID-19, o CDC preconizou o uso prolongado de máscaras faciais pelos profissionais da saúde, ou seja, usar a mesma máscara, mesmo em contato próximo com pessoas diferentes, sem removê-la entre os atendimentos. Todavia, a mesma deve ser removida, descartada e substituída por outra nova, se estiver suja, úmida, danificada, ou se o profissional apresentar dificuldade de respirar com ela.⁽¹⁵⁾ Os clientes também devem estar utilizando máscara durante o período em que permanecerem no laboratório.

Os laboratórios devem adotar estratégias de proteção à saúde de todos os colaboradores, terceirizados ou não. Cartazes e outros recursos visuais são ferramentas educativas e devem ser utilizadas minimamente para orientar a correta higienização das mãos, uso de máscaras e etiqueta respiratória.

Algumas estratégias que podem ser utilizadas para minimizar os riscos de infecção pelo SARS-CoV-2,^(2,24,25) aos quais os trabalhadores podem estar expostos durante suas atividades laborais, são:

- Utilizar tapete sanitizante na entrada do laboratório;
 - Medir a temperatura dos clientes com serviço ágil para não causar filas e aglomeração e se possível dispor de áreas de atendimento separadas;
 - Manter na entrada, de forma sinalizada, o ponto de higienização de mãos com água e sabão, papel descartável, lixeira com tampa acionada por pedal e álcool em gel 70%;
 - Diminuir o número de assentos vagos no espaço da recepção;
 - Colocar uma "linha" de contenção, aumentando a distância entre o paciente e o profissional da recepção;
 - Estabelecer marcações no chão (adesivo de piso informativo) com distanciamento de 1,5 metros para fila;
 - Retirar todos os objetos supérfluos que possam ser tocados pelos clientes na recepção (*folders*, revistas, cafeteira, filtro de água, brinquedos, etc.);
 - Proteger os teclados, mouses, máquinas de cartão, etc. com filme plástico para facilitar a descontaminação;
 - Utilizar rotas de circulação pré-estabelecidas para evitar o contato entre as pessoas;
 - Manter as janelas e portas de acesso sempre abertas. Caso seja necessário permanecer com ar-condicionado ligado deve-se ter atenção especial à limpeza dos filtros e ao direcionamento do fluxo de ar;
 - Triar sinais e sintomas de colaboradores antes da entrada, com termômetro de superfície. Se constatar febre, notificar o colaborador para buscar orientação e cuidado no sistema de saúde;
 - Quando necessário o uso de crachás para acesso, orientar os colaboradores sobre a higienização destes e sobre o não uso de cordões;
 - Tornar de uso individual objetos como caneta, lápis, calendário, etc.;
 - Fechar ou controlar o acesso às áreas de convivência (copas, cozinhas);
 - Oferecer o transporte de colaboradores de casa-laboratório-casa;
 - Priorizar escalas de trabalho 12 x 36.
- Somente pessoal treinado deve ter permissão para coleta, armazenamento, embalagem e transporte de amostras, garantindo que sejam utilizados procedimentos operacionais padrão adequados em consonância com as diretrizes nacionais ou da OMS, e que todas as amostras sejam tratadas como potencialmente infecciosas.⁽³⁾

Coleta de amostras

A coleta de amostras respiratórias ou de sangue de pacientes clinicamente suspeitos ou confirmados com

COVID-19 deve ser extremamente cuidadosa visto que o contato *per se* com o paciente expõe o profissional de saúde. Em especial, a coleta de amostras do trato respiratório superior, de *swab* naso e orofaríngeo, pode expor ainda mais o profissional de saúde pelo risco de ocorrência de espirro ou vômito, respectivamente, nos procedimentos.

Ao coletar sangue e outras amostras não respiratórias de pacientes clinicamente suspeitos ou confirmados com COVID-19, o profissional de saúde deve utilizar jaleco que cubra o máximo possível o corpo, máscara N95, luvas descartáveis e proteção para os olhos como óculos ou protetor facial.^(6,26) Sempre que possível, o profissional deve posicionar-se lateralmente ao paciente durante a coleta para evitar a troca direta do respirado.

Em ambiente hospitalar, a coleta de amostras respiratórias ou não de pacientes clinicamente suspeitos ou confirmados com COVID-19 deve ser realizada prioritariamente pela equipe de enfermagem, de forma a expor o menor número possível de profissionais.⁽²⁶⁾

Idealmente, o local de coleta de amostras de pacientes clinicamente suspeitos ou confirmados com infecção por microrganismos de classe de risco 3, como o SARS-CoV-2, deve ser equipado com pressão negativa de ar (exaustão) unidirecional com 12 trocas ou mais de ar por hora.^(2,26) Quando isso não for possível, um ambiente individual com ventilação natural com taxa média de ventilação de 160 L/s pode ser usado.^(6,26)

Depois de usar a sala individual, devem-se desinfetar as superfícies de acordo com o procedimento padronizado e deixar o ambiente vago por um período de aproximadamente trinta minutos. Durante o procedimento, deve ser evitada a entrada e saída de outras pessoas na sala.⁽²⁶⁾

Durante a pandemia, muitas vezes é difícil discriminar amostras clínicas coletadas de pacientes clinicamente suspeitos ou confirmados com COVID-19. Nesse contexto, uma marcação especial no rótulo de identificação da amostra indicando suspeita ou confirmada a contaminação por SARS-CoV-2 é uma boa prática, embora não esteja sendo realizada por cerca de metade dos laboratórios.⁽²³⁾

Transporte de amostras

Para o transporte externo de amostras deve ser utilizado o sistema de embalagem tripla. O recipiente primário deve ser de plástico e fechado com tampa de rosca. A superfície externa do recipiente primário deve ser desinfetada usando-se desinfetantes apropriados, como etanol a 70%, cuidando para não danificar a identificação do paciente. O recipiente primário deve ser envolvido com material absorvente suficiente para absorver todo o volume da amostra, caso haja quebra ou vazamento, e colocado em um recipiente secundário com a tampa do recipiente primário voltada para cima. O recipiente secundário deve ser fechado com tampa à prova d'água e de vazamentos.⁽²⁶⁾

Materiais de amortecimento, como plástico bolha ou flocos de isopor, devem ser colocados entre a embalagem secundária e a embalagem externa para reduzir agitação e impacto externo durante o transporte. Os documentos de informações da amostra devem ser colocados entre o recipiente secundário e a embalagem externa (recipiente terciário). A superfície do recipiente terciário deve exibir os contatos do remetente e do destinatário, bem como um rótulo UN3373 indicando uma substância infecciosa da Categoria B para amostras de casos suspeitos ou confirmados.^(6,26) Culturas ou isolados virais devem ser transportados como Categoria A UN2814, substância infecciosa que afeta seres humanos.⁽⁸⁾

Diferentemente das recomendações anteriores, agora o CDC recomenda o transporte de todas as amostras biológicas dentro da mesma instituição por sistema de tubos pneumáticos, exceto amostras respiratórias, o qual deve ser realizado pessoalmente.^(2,6,9,26) O pessoal que transporta a amostra deve ser treinado em procedimentos de descontaminação de derramamentos. Nesse caso, o recipiente primário deve ser embalado em saco tipo *zip-lock* e colocado em um recipiente secundário, tipo caixa térmica, que deve ser rotulado para indicar que contém substâncias infecciosas.^(6,9,26) Se não houver vazamentos visíveis no recipiente secundário ao receber uma amostra, o mesmo poderá ser reutilizado depois de desinfetado com substâncias apropriadas, como etanol a 70%.⁽²⁶⁾

Biossegurança na fase analítica

Procedimentos laboratoriais comuns como abertura manual de tubos, pipetagem, alíquotagem, agitação em vórtex, trituração, extração, homogeneização e centrifugação normalmente resultam na geração de aerossóis. Portanto, assim como o local de coleta de amostras, as atividades devem ser realizadas em local com direcionamento do fluxo de ar para impedir a propagação do vírus SARS-CoV-2.^(1,13)

Idealmente, o processamento inicial (antes da inativação) de todas as amostras, inclusive aquelas para sequenciamento e amplificação, deve ocorrer em uma CSB classe II tipo A2 validada.^(8,9)

Todos os procedimentos técnicos devem ser realizados de modo a minimizar a geração de aerossóis e gotículas.⁽⁸⁾ Se o recipiente da amostra precisar ser aberto fora da CSB, uma máscara N95 deve ser usada pelo pessoal e a bancada deve ser desinfetada após o procedimento.⁽²⁰⁾

As amostras submetidas à extração ou inativação de ácido nucleico na CSB podem ser manuseadas fora da CSB de acordo com as precauções padrão para amostras convencionais. Deve-se tomar cuidado para evitar a contaminação cruzada durante a extração de ácidos nucleicos e a adição de reagentes.⁽²⁰⁾

Caso a CSB não esteja disponível e seja necessária uma centrifugação, devem ser utilizadas centrífugas com rotores com tampa e com ventosas de segurança que protegem contra aerossóis e gotículas. Além disso, os tubos devem estar fechados e posicionados de forma equilibrada em uma centrífuga em área aberta bem ventilada. Não é recomendado forçar a parada da centrífuga. A centrífuga não deve ser aberta após pelo menos dois a dez minutos após a conclusão da operação para permitir a sedimentação dos aerossóis dentro do recipiente, ou trinta minutos caso haja quebra de tubo.^(1,2,6)

Estudos sugerem a inativação das amostras para a distribuição e estudo seguro das mesmas.⁽²⁰⁾ Recomenda-se que as amostras sejam colocadas a 56°C por trinta minutos para inativar o vírus antes de abrir o recipiente da amostra. No entanto, como as informações sobre a infectividade viral ainda são limitadas, as amostras devem ser consideradas de alto risco.⁽⁶⁾

Se a pele ou a mucosa for perfurada, cortada ou entrar em contato direto com o material suspeito de conter SARS-CoV-2, o indivíduo afetado deve retirar os EPI e lavar as áreas afetadas imediatamente, usar antisséptico de pele apropriado e procurar atendimento médico.⁽⁶⁾

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O laboratório de análises clínicas está na linha de frente no combate à pandemia, produzindo resultados de testes para o diagnóstico e monitoramento de pacientes com COVID-19 entre outros. Devido à natureza da transmissibilidade da doença, a equipe do laboratório enfrenta incertezas e receio de contrair a doença.

As boas práticas de biossegurança para coleta, transporte e manipulação de amostras clinicamente suspeitas ou confirmadas com microrganismos de classe de risco 3 foram estabelecidas muito antes do surgimento da COVID-19. No entanto, a alta transmissibilidade do SARS-CoV-2 trouxe à tona boas práticas clássicas que estavam esquecidas não só pela população em geral, mas também pelos profissionais de laboratório, como a higienização das mãos, a etiqueta respiratória e a forma correta de paramentação e desparamentação dos EPI.

Uma dificuldade desta revisão e provavelmente dos profissionais de saúde é que existem poucos documentos completos sobre biossegurança voltados especificamente para laboratórios clínicos, ou seja, aqueles com um nível geral 2 de biossegurança. Há vários manuais, diretrizes, livros, artigos, etc. com abordagens parciais de biossegurança ou que geralmente abordam testes microbiológicos e moleculares, com pouca orientação específica para o laboratório de forma geral. Corroborando a opinião de Lippi e colaboradores,⁽²⁾ as orientações são baseadas em evidências limitadas e frequentemente fracas, oriundas de

opiniões, estudos observacionais ou extrapolações de epidemias anteriores causadas pelos coronavírus SARS e MERS.

Além disso, os documentos nacionais são manuais, diretrizes ou recomendações, ou seja, não são obrigações legais dos profissionais de laboratório. A única legislação existente⁽²⁷⁾ trata dos deveres do empregador, por exemplo, devendo o mesmo vedar alguns comportamentos inadequados dos profissionais.

Na pandemia, os laboratórios com poucos recursos necessitaram adaptar soluções seguras e econômicas, mesmo que improvisadas, para garantir o manuseio seguro de amostras clínicas contaminadas com SARS-CoV-2.

Acreditamos na capacidade resiliente dos laboratórios e na adoção das boas práticas destacadas nesta revisão para minimizar o risco de infecção por SARS-CoV-2 entre os profissionais dos laboratórios clínicos.

Abstract

Due to the emergence of SARS-CoV-2 the laboratories had to adapt, as quickly as the pandemic was installed, to safely meet the growing demand for the diagnostic tests. The high potential for virus spread, contact with patients and laboratory handling of samples has become an unprecedented challenge for laboratories. The need for biosafety practices has never been more globally emphasized as in the current circumstances of the pandemic. The purpose of this narrative review was to highlight strategies to prevent contamination by SARS-CoV-2 in clinical laboratories, using as reference the literature published in books, scientific articles, technical guides from health and scientific authorities, and the critical and personal analysis of the author. Some topics that were covered: understanding risks, biosafety strategies, biosafety levels, containment barriers, correct use of personal protective equipment (PPE), disinfection of laboratory areas, safe disposal of waste, and biosafety in the pre-analytical and analytical phases. The orientations are based on limited and often weak evidence arising from opinions, observational studies or extrapolations from the previous epidemics coronaviruses. The highlighted good practices on biosafety were established long before the emergence of COVID-19. However, the pandemic brought up to the laboratory professionals and population in general, good practices that had been forgotten, such as hands hygiene, respiratory etiquette and the correct way of donning and doffing PPE. In the pandemic, laboratories with limited resources had to adapt safe and economical solutions to ensure safety in the clinical laboratory.

Keywords

Biosafety; COVID-19; SARS-CoV-2; pandemic; laboratories; personal protective equipment (PPE)

REFERÊNCIAS

1. Gardezi SAH, Ikram A. Application of biosafety principles in Laboratory Analysis of Clinical Samples from patients with COVID-19. J Pak Med Assoc. 2020; 70(Suppl 3)(5):S48-S51. doi:10.5455/JPMA.10.
2. Lippi G, Adeli K, Ferrari M, Horvath AR, Koch D, Sethi S, et al. Biosafety measures for preventing infection from COVID-19 in clinical laboratories: IFCC Taskforce Recommendations. Clin Chem Lab Med. 2020;58(7):1053-1062. doi:10.1515/cclm-2020-0633.
3. Mourya DT, Sapkal G, Yadav PD, M Belani SK, Shete A, Gupta N. Biorisk assessment for infrastructure & biosafety requirements for the laboratories providing coronavirus SARS-CoV-2/(COVID-19) diagnosis. Indian J Med Res. 2020;151(2 & 3):172-176. doi:10.4103/ijmr.IJMR_763_20.

4. Xie X, Li Y, Chwang AT, Ho PL, Seto WH. How far droplets can move in indoor environments--revisiting the Wells evaporation-falling curve. *Indoor Air*. 2007; 17(3):211-225. doi:10.1111/j.1600-0668.2007.00469.x.
5. Nicas M, Nazaroff WW, Hubbard A. Toward understanding the risk of secondary airborne infection: emission of respirable pathogens. *J Occup Environ Hyg*. 2005;2(3):143-154. doi:10.1080/15459620590918466.
6. Wang K, Zhu X, Xu J. Laboratory Biosafety Considerations of SARS-CoV-2 at Biosafety Level 2. *Health Secur*. 2020;18(3):232-236. doi:10.1089/hs.2020.0021.
7. Ministério da Saúde (Brasil). Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. Classificação de risco dos agentes biológicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento do Complexo Industrial e Inovação em Saúde. - 3ª ed. - Brasília: Ministério da Saúde, 2017. 48 p.
8. Organização Pan Americana de Saúde (Brasil). Orientações de biossegurança laboratorial relativa à doença do coronavírus (COVID-19). Orientação provisória 19 de março de 2020.
9. Tan SS, Yan B, Saw S, Lee CK, Chong AT, Jureen R, Sethi S. Practical laboratory considerations amidst the COVID-19 outbreak: early experience from Singapore [published online ahead of print, 2020 Mar 20]. *J Clin Pathol*. 2020;jclinpath-2020-206563. doi: 10.1136/jclinpath-2020-206563.
10. Center for Disease Control and Prevention. Hierarchy of Controls. Overview [acesso em 17jul2020]. Disponível em <https://www.cdc.gov/niosh/topics/hierarchy/default.html>.
11. Byrd JJ, Emmert E, Maxwell R, Townsend H; ASM Task Committee on the Revision of the 2012 Laboratory Biosafety Guidelines. Guidelines for Biosafety in Teaching Laboratories Version 2.0: A Revised and Updated Manual for 2019. *J Microbiol Biol Educ*. 2019;20(3):20.3.57. Published 2019 Dec 18. doi:10.1128/jmbe.v20i3.1975.
12. Ahmad T, Haroon, Dhama K, Sharun K, Khan FM, Ahmedet I, et al. Biosafety and biosecurity approaches to restrain/contain and counter SARS-CoV-2/COVID-19 pandemic: a rapid-review. *Turk J Biol*. 2020;44(3):132-145. Published 2020 Jun 21. doi:10.3906/biy-2005-63.
13. Organização Mundial da Saúde. Manual de segurança biológica em laboratório - 3ª edição. Genebra, 2004.
14. Ministério do Trabalho e Emprego (Brasil). Portaria nº 877 de 24 de outubro de 2018. Altera a redação da Norma Regulamentadora nº 6. Equipamento de Proteção Individual de 1978 [acesso em 19jul2020]. Disponível em: https://enit.trabalho.gov.br/portal/images/Arquivos_SST/SST_NR/NR-06.pdf.
15. Conselho Federal de Farmácia. Uso dos Equipamentos de Proteção Individual (EPI's) pelos Farmacêuticos e demais Profissionais da Saúde: COVID-19, 2020.
16. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Cartilha de Proteção Respiratória contra Agentes Biológicos para Trabalhadores de Saúde. Brasília: Ministério da Saúde; 2006.
17. Muñoz-Leyva F, Niazi AU. Common breaches in biosafety during donning and doffing of protective personal equipment used in the care of COVID-19 patients. *Can J Anaesth*. 2020;67(7):900-901. doi:10.1007/s12630-020-01648-x.
18. Loh TP, Horvath AR, Wang CB, Koch D, Adeli K, Mancini N, et al. Operational considerations and challenges of biochemistry laboratories during the COVID-19 outbreak: an IFCC global survey [published online ahead of print, 2020 Jun 4]. *Clin Chem Lab Med*. 2020;/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0710/cclm-2020-0710.xml. doi:10.1515/cclm-2020-0710.
19. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa). Nota Técnica nº 22. Recomendações e alertas sobre procedimentos de desinfecção em locais públicos realizados durante a pandemia da COVID-19 SEI/COSAN/GHCOS/DIRE3. Brasília: Ministério da Saúde; 2020.
20. Bain W, Lee JS, Watson AM, Stitt-Fischer MS. Practical Guidelines for Collection, Manipulation and Inactivation of SARS-CoV-2 and COVID-19 Clinical Specimens. *Curr Protoc Cytom*. 2020;93(1):e77. doi:10.1002/cpcy.77.
21. Centers for Disease Control and Prevention. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). March 18, 2020 [acesso em 20jul2020]. Disponível em <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafetyguidelines.html>.
22. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 222, de 28 de março de 2018. Regulamento as Boas Práticas de Gerenciamento dos Resíduos de Serviços de Saúde e dá outras providências. Diário Oficial da União 29 mar 2018.
23. Loh TP, Horvath AR, Wang CB, Koch D, Lippi G, Mancini N, et al. Laboratory practices to mitigate biohazard risks during the COVID-19 outbreak: an IFCC global survey [published online ahead of print, 2020 Jun 4]. *Clin Chem Lab Med*. 2020;/j/cclm.ahead-of-print/cclm-2020-0711/cclm-2020-0711.xml. doi:10.1515/cclm-2020-0711.
24. Marques M, et al. Orientações para boas práticas em alimentação e nutrição hospitalar no enfrentamento da Covid-19 [E-book]. Goiânia: Cegraf UFG, 2020. 49 p.
25. Ministério da Saúde. Diretrizes para diagnóstico e tratamento da COVID-19. Versão 4. 07 de maio de 2020.
26. Hong KH, Lee SW, Kim TS, Huh HJ, Lee J, Kim SY, et al. Guidelines for Laboratory Diagnosis of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in Korea. *Ann Lab Med*. 2020;40(5):351-360. doi:10.3343/alm.2020.40.5.351.
27. Ministério do Trabalho e Emprego (Brasil). Norma Regulamentadora (NR) nº 32 de 11 de novembro de 2005. Segurança e saúde no trabalho em serviços de saúde. Diário Oficial da União 16 nov 2005.

Correspondência

Flávia Martinello

Departamento de Análises Clínicas
Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC)
88040-900 – Florianópolis-SC, Brasil
flavia.martinello@ufsc.br