

PROTOCOLO LABORATORIAL DE ORIENTAÇÕES DE COLETA, ARMAZENAMENTO, CONSERVAÇÃO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA O DIAGNÓSTICO DE *MONKEYPOX*

OBJETIVO

Fornecer orientações para os Serviços de Saúde acerca da coleta, do armazenamento, da conservação e do transporte de exames laboratoriais para *Monkeypox virus* (MPXV) no território nacional.

ÂMBITO

As orientações contidas neste documento são de abrangência federal, estadual, regional e municipal.

EQUIPAMENTOS DE PROTEÇÃO INDIVIDUAL

Para a coleta de amostra de exames, recomenda-se que os profissionais de saúde usem os seguintes Equipamentos de Proteção Individual (EPI):

Para coleta de crostas e *swabs* de máculas, pápulas, vesículas e pústulas:

- Calçado fechado
- Avental descartável
- Máscara cirúrgica ou superior
- Óculos ou protetor facial
- Luvas de procedimento

Para coleta de *swabs* de orofaringe e/ou nasofaringe:

- Calçado fechado
- Calça comprida
- Avental descartável
- Máscara N95 ou PFF2
- Óculos ou protetor facial
- Gorro
- Luvas de procedimento

Para armazenamento e transporte:

- Calçado fechado
- Calça comprida
- Avental
- Luvas de procedimento

MATERIAL PARA AMOSTRAS LABORATORIAIS

Na investigação laboratorial são recomendadas as seguintes coletas de amostras, considerando pesquisa/técnica, armazenamento/conservação e transporte:

Monkeypox: material vesicular, crosta, lesões de mucosas, *swab* de orofaringe/ nasofaringe e *swab* perianal e genital

Deve ser dada preferência para as amostras de material vesicular ou pustular, sempre que esses materiais estiverem disponíveis, conforme descrito a seguir.

Material Vesicular (Secreção de Vesícula)

A coleta de material de lesões cutâneas ou mucosas deve ser realizada por meio de *swab*, sendo o método mais indicado para confirmação diagnóstica. *Swabs* estéreis de nylon, poliéster, Dacron ou Rayon são os indicados.

A OMS não recomenda romper as lesões com instrumentos cortantes ou perfurantes diante do risco de acidente com secreção.

Deve-se realizar esfregaço forte e intenso sobre uma ou mais lesões, dando preferência às lesões vesiculares ou às pústulas.

Quando o paciente suspeito apresentar mais de uma vesícula, sugere-se coletar um *swab* de cada lesão, **no mínimo, dois *swabs* por paciente**, e armazenar todos os *swabs* num mesmo tubo seco, formando um *pool* (conjunto) de amostras do mesmo paciente.

Colocar o *swab* preferencialmente em tubo seco, uma vez que os poxvírus mantêm-se estáveis na ausência de qualquer meio preservante.

Crosta (Crosta de Lesão)

Quando o paciente é encaminhado para coleta em fase mais tardia, na qual as lesões já estão secas, o material a ser encaminhado são as crostas, as quais devem ser armazenadas em frascos limpos **SEM** líquido preservante (nesse caso, o uso de qualquer líquido preservante reduz as chances de detecção do *Monkeypox* vírus (MPXV).

Quando o paciente suspeito apresentar mais de uma lesão, sugere-se coletar, no mínimo, quatro amostras de crosta por paciente, se possível, e armazenar todas num mesmo tubo seco, formando um *pool* (conjunto) de amostras do mesmo paciente.

Lesões apenas de mucosas (oral/região perianal e genital) sugestivas de *monkeypox*

Coletar o material dessas lesões em *swab*, seguindo as orientações descritas para a coleta de material vesicular.

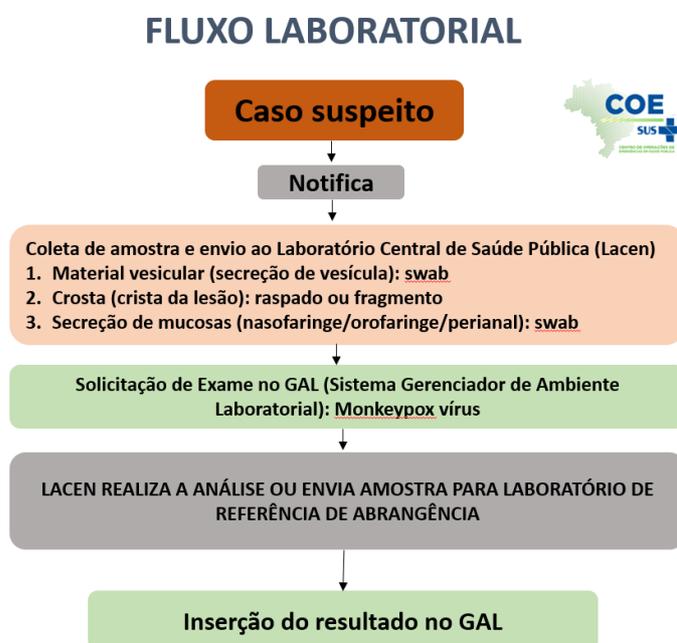
Swab de orofaringe/nasofaringe e swab perianal e genital

Quando o paciente estiver sem erupções cutâneas e sem lesões de mucosas, em especial contato de caso confirmado que inicie com quadro de febre e adenomegalia OU para diagnóstico complementar para *N. gonorrhoeae* e *Chlamydia trachomatis*, coletar swab de orofaringe/nasofaringe e swab perianal e genital, seguindo as orientações descritas para a coleta de material vesicular.

ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS

Para o armazenamento das amostras, todos os materiais devem ser mantidos congelados a -20°C (ou temperaturas inferiores), por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezers, pode-se manter em geladeira (2 a 8 °C) por até 7 dias.

FLUXO LABORATORIAL



Fonte: COE *Monkeypox*, 2022

EMBALAGEM E ACONDICIONAMENTO

Para os materiais biológicos humanos classificados como substâncias biológicas Categoria B UN 3373, devem ser aplicadas as disposições normativas vigentes referentes à instrução de embalagem PI 650.

Somente embalagens constituídas de materiais passíveis de limpeza, secagem e desinfecção ou esterilização, caso sejam tecnicamente justificáveis, poderão ser reutilizadas, mediante protocolos definidos e com a manutenção dos registros dos procedimentos realizados.

Segundo a RDC n.º 504, de 27 de maio de 2021, a embalagem terciária deve conter, no mínimo:

1. identificação do remetente e do destinatário, além de endereços completos e telefones de contato;
2. identificação apropriada do material biológico;
3. etiqueta e marcação referente ao tipo de material biológico transportado, quando aplicável;
4. frases de advertências, quando aplicável;
5. sinalização de modo e sentido de abertura, quando aplicável;
6. marcação de embalagem homologada, quando aplicável; e
7. contatos telefônicos, disponíveis 24 (vinte e quatro) horas, para casos de acidentes e incidentes.

TRANSPORTE DE AMOSTRAS

O transporte das amostras coletadas deve seguir o disposto pela Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n.º 504, de 27 de maio de 2021, que dispõe sobre as Boas Práticas para o transporte de material biológico humano. Essa atividade deve cumprir os padrões sanitários apresentados pela normativa, independentemente da modalidade e forma de transporte, para garantir a segurança, minimizar os riscos sanitários e preservar a integridade do material transportado.

O material biológico coletado para investigação de *monkeypox* será classificado como Categoria B, salvo os casos especificados na normativa supracitada. Essa categoria é definida como sendo o material biológico infeccioso que não se inclui na categoria A, classificado como "substância biológica de Categoria B" UN 3373, inserindo-se nesse grupo amostras de pacientes de que se suspeita ou se saiba conter agentes infecciosos causadores de doenças em humanos.

METODOLOGIA

A metodologia adotada pelo Ministério da Saúde para detecção do DNA do MPXV por metodologia de RT-qPCR é o protocolo publicado pelo *Centers for Disease Control and Prevention* – CDC, disponível em <https://www.cdc.gov/poxvirus/monkeypox/pdf/PCR-Diagnostic-Protocol-508.pdf>.

Conforme Resolução de Diretoria Colegiada – RDC n.º 302, de 13 de outubro de 2005, aqueles laboratórios clínicos que realizam a investigação por detecção molecular do vírus por reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR), utilizando metodologias próprias (*in house*), devem seguir os pontos específicos apresentados na normativa. Essa metodologia somente poderá ser utilizada pelo laboratório clínico que produziu e validou seu reagente ou sistema analítico. É importante frisar que essa metodologia não pode ser comercializada, devendo ser utilizada exclusivamente para uso próprio, em pesquisa ou apoio ao diagnóstico.

Com a finalidade de assegurar que os resultados dos exames laboratoriais para detecção de MPXV realizados nos laboratórios privados ou nos laboratórios que não compõem a Rede Nacional de Laboratório de Saúde Pública (RNLSP) atendam aos requisitos e padrões técnicos, principalmente em relação aos protocolos oficialmente adotados, os seguintes critérios devem ser obedecidos:

- Atender/cumprir as determinações descritas na Resolução da Diretoria Colegiada n.º 302, de 13 de outubro de 2005, que dispõe sobre Regulamento Técnico para funcionamento de Laboratórios Clínicos.
- Preencher com os requisitos legais municipais ou estaduais para funcionamento de um laboratório de análises clínicas:
 - Inscrição Municipal/Estadual
 - Alvará Sanitário
 - Cadastro atualizado no CNES
 - Possuir Responsável Técnico com registro de classe ativo
- Os casos suspeitos de *monkeypox* devem ser notificados conforme orientação do Plano de Contingência.

A Portaria GM/MS n.º 3.328/2022 estabelece a obrigatoriedade de notificação ao Ministério da Saúde de todos os resultados de testes diagnóstico para detecção do *Monkeypox* Vírus realizados por laboratórios da **rede pública, rede privada, universitários e quaisquer outros, em todo o território nacional**. Dessa forma, **todos os laboratórios devem comunicar, em até 24 horas**, os resultados dos testes de diagnóstico de MPXV, independentemente do resultado detectado/positivo ou não detectado/negativo, além da informação sobre a técnica diagnóstica utilizada.

Para mais informações e vídeo instrutivo, acessar a página:

<https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/svs/resposta-a-emergencias/coes/monkeypox/diagnostico>.

Quadro 1. Orientações de pesquisa, material, procedimento de coleta e armazenamento/conservação das amostras

Pesquisa	Técnica	Material	Procedimento de Coleta	Armazenamento/Conservação
<i>Monkeypox</i>	Biologia molecular (qPCR ou sequenciamento)	Material Vesicular (Secreção de Vesícula)	<p>Material mais indicado para o diagnóstico. Coletar preferencialmente pústulas vesiculares, as quais apresentam carga viral mais elevada.</p> <p>No mínimo 2 swabs para cada paciente.</p> <p>Sugere-se coletar secreção de mais de uma lesão, sendo um <i>swab</i> para cada lesão.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar os tubos (nome do paciente, data de coleta, tipo de material, local da lesão). 2. Desinfectar o local da lesão com álcool 70% e deixar secar. 3. Coletar o material da base da lesão com o <i>swab</i>. 4. Inserir o <i>swab</i> no tubo de rosca, SEM líquido preservante, e quebrar a haste. 	<p>Armazenar em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte.</p> <p>Refrigerar (2 a 8 °C) ou congelar (-20°C) dentro de uma hora após a coleta.</p> <p>Os materiais devem ser mantidos congelados a -20°C (ou temperaturas inferiores), por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezer, pode-se manter em geladeira (2 a 8 °C) por até 7 dias.</p>

<i>Monkeypox</i>	Biologia molecular (qPCR ou sequenciamento)	Crosta (Crosta de Lesão)	<p>Optar preferencialmente pelas crostas menos secas, ou seja, coletar aquelas em fase inicial de cicatrização (mais chance de detecção de genoma viral ou da partícula viral). Sugere-se coletar crosta de mais de uma lesão, preferencialmente de, no mínimo, 4 crostas, por paciente.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar os tubos (nome do paciente, data de coleta, tipo de material, local da lesão). 2. Desinfectar o local da lesão com álcool 70% e deixar secar. 3. Coletar o material da crosta com a pinça anatômica em lesões mais desprendidas e utilizar bisturi para crostas mais aderidas (retirá-la inteira ou por fragmentos). 4. Acondicionar a crosta e/ou os fragmentos em um único tubo de transporte com tampa de rosca. 	<p>Refrigerar (2 a 8 °C) ou congelar (-20°C) dentro de uma hora após a coleta. Os materiais devem ser mantidos congelados a -20°C (ou temperaturas inferiores), por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezer, pode-se manter em geladeira (2 a 8 °C) por até 7 dias.</p> <p>As crostas devem ser armazenadas em frascos limpos SEM líquido preservante.</p>
<i>Monkeypox</i>	Biologia molecular (qPCR ou sequenciamento)	Lesões apenas de mucosas (oral/região perianal e genital)	<p>Sugere-se coletar a secreção dessas lesões.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Identificar os tubos (nome do paciente, data de coleta, tipo de material, local da lesão). 2. Coletar o material da base da lesão com o <i>swab</i>. 3. Inserir o <i>swab</i> no tubo de rosca e quebrar a haste, SEM líquido preservante. 	<p>Armazenar, preferencialmente, em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte.</p> <p>Refrigerar (2 a 8 °C) ou congelar (-20°C) dentro de uma hora após a coleta. Os materiais devem ser mantidos congelados a -20°C (ou temperaturas inferiores), por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezer, pode-se manter em geladeira (2 a 8 °C) por até 7 dias.</p>

<i>Monkeypox</i>	Biologia molecular (qPCR ou sequenciamento)	Secreção de Orofaringe	Coletar 1 <i>swab</i> da orofaringe. Utilizar <i>swab</i> ultrafino (alginatado ou rayon), com haste flexível, alginatado e estéril. Realizar movimentos rotatórios na lesão e, em seguida, retirá-lo.	<p>Armazenar, preferencialmente, em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte.</p> <p>Refrigerar (2 a 8 °C) ou congelar (-20°C) dentro de uma hora após a coleta. Os materiais devem ser mantidos congelados a -20°C (ou temperaturas inferiores), por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezer, pode-se manter em geladeira (2 a 8 °C) por até 7 dias.</p>
------------------	---	-------------------------------	---	---