

Coronavírus - SARS-CoV-2: Classe de risco e consensos de biossegurança para laboratório com amostras infectantes

Coronavírus - SARS-CoV-2: Risk group and biosafety consensus for laboratory with infectious samples

PEDRO CANISIO BINSFELD ¹, NINIVE AGUIAR COLONELLO ²

RESUMO

A pandemia do Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), iniciada na China, e ainda em curso no Brasil e mundo afora, já registra mais de 4,0 milhões de casos confirmados e mais de 280 mil óbitos após 4 meses de dispersão do vírus. É no momento o patógeno de maior prioridade a ser tratado, por ter alta transmissibilidade, associado à graves doenças e mortalidade, assim como, ausência de medidas profiláticas e terapêuticas eficazes, limitados conhecimentos da epidemiologia, imunidade e patogênese humana. Para acompanhar à crescente demanda dos serviços clínicos e diagnósticos, é necessário aprimorar a biossegurança e expandir a capacidades dos laboratórios e profissionais. O artigo destaca a classe de risco e os consensos dos requisitos mínimos de biossegurança para atividades em laboratórios clínicos e diagnósticos com o SARS-COV-2, assim como, a prevenção de riscos biológicos aos profissionais, evitando disseminação acidental às famílias e à comunidade.

Palavras-chave: Biossegurança, COVID-19, Coronavírus, laboratório de diagnóstico

ABSTRACT

The pandemic outbreak of coronavirus 2 (SARS-CoV-2), which began in China, is still ongoing in Brazil and worldwide, with over than 4.0 million confirmed cases and 280,000 deaths after 4 months of the virus spreading. It is now the top-priority pathogen to be dealt with due to its high transmissibility, severe illness and associated mortality, absence of effective prophylactic and therapeutic measures with knowledge gaps in human epidemiology, immunity and pathogenesis. To meet the increasing demand of the diagnostic and clinical services, it is necessary to improve biosafety and expand laboratory capabilities since the existing

¹ Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas – Fundação Oswaldo Cruz – INI/Fiocruz e Empresa Brasileira de Hemoderivados e Biotecnologia – Hemobrás. Av. Brasil, 4365 – Mangueiras. 21040-360 - Rio de Janeiro-RJ.

² Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde, Coordenação-Geral de Inovação Tecnológica na Saúde. Esplanada dos Ministérios, Bloco G, Edifício Sede, 8º andar, 70058-900 – Brasília-DF.

laboratories and workers cannot meet the emerging demand. This article highlights the risk class and biosafety consensus of the minimum requirements for the SARS-COV-2 clinical and diagnostic laboratories, as well as, the prevention of the biorisk to the workers, avoiding accidental dissemination to their families and the community.

Keywords: Biosafety, COVID-19, Coronavirus, diagnostic laboratory

1. INTRODUÇÃO

O novo Coronavírus denominado de SARS-CoV-2 causa uma doença infecciosa grave chamada COVID-19 (do inglês *Coronavirus Disease 2019*) que provoca uma Síndrome Respiratória Aguda Grave. A nova enfermidade foi identificada pela primeira vez em Wuhan, na China, em dezembro de 2019, em um grupo de pacientes que apresentavam uma forma não identificada de pneumonia viral **1**. O vírus foi identificado em pacientes que apresentavam pneumonia viral, dos quais foi coletado líquido broncoalveolar. O isolado das amostras biológicas revelou que era um novo vírus que pertencia ao Gênero *Betacoronavirus*, colocando-o ao lado de outras síndromes respiratórias graves como, a Síndrome Respiratória Aguda Grave (SARS) e a Síndrome Respiratória do Oriente Médio (MERS) **1, 2, 3**.

No momento da redação deste artigo, já havia mais de 4.000.000 pessoas que testaram positivo para a COVID-19, com mais de 280.000 óbitos em 203 países que registraram casos da SARS-CoV-2 **4, 5**. No Brasil, havia mais de 140.000 pessoas que testaram positivo e com o registro de mais de 9.600 óbitos **5, 6**. Apesar das medidas de contenção inicialmente adotadas o vírus se espalhou globalmente em menos de três meses após a primeira identificação. Em 30 de janeiro de 2020, o Comitê Internacional de Emergência da Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou a COVID-19 uma emergência de saúde pública de interesse internacional e a declarou como Pandemia em 11 de março de 2020, devido a dispersão global, os riscos de infecção e impactos à saúde pública **4, 7**.

O Coronavírus SARS-CoV-2 é um vírus de RNA de cadeia simples, com cerca de 29,7 kb, na qual se reconhece 13 genes que formam 14 proteínas conhecidas. A partícula viral é esférica pleomórfica com projeções bulbosas na superfície formando uma coroa em torno das partículas, com tamanho entre 70 e 140 nanômetros **8, 9**. Pertence à família *Coronaviridae* que é formada por cinco gêneros, segundo o Comitê Internacional de Taxonomia Viral **10**, sendo dois deles de relevância para a saúde humana, os quais encontram-se na lista oficial da Classificação de risco dos agentes biológicos do Ministério da Saúde (MS) **3**. Os gêneros

Alphacoronavirus – contém o Coronavírus Humano 229 e o gênero *Betacoronavirus* – no qual encontra-se o vírus OC43, que foram classificados como sendo da classe de risco 2, com exceção de MERS-CoV e SARS-CoV relacionados à Síndromes Respiratórias Agudas Graves que foram incluídos na classe de risco 3 **3**. Todavia, o SARS-CoV-2, ainda não consta na lista oficial da Classificação de risco dos agentes biológicos do MS.

Estudos recentes indicam que a patogenicidade e a virulência do SARS-CoV-2, está associada a alta afinidade com os receptores de enzima conversora da angiotensina 2 (ACE2), uma aminopeptidase ligada à membrana que é altamente expressa no coração e nos pulmões, mas encontrada na superfície de vários tipos de células humanas, sendo que esta ligação, eficiente e estável, parece também facilitar a dispersão viral de pessoa-para-pessoa **11, 12**. A infecção ocorre primariamente no trato respiratório superior por meio do contato direto com secreções respiratórias infecciosas, formadas por aerossóis, gotículas produzidas por pessoa infectada ou pelo contato com amostras, objetos ou superfícies contaminadas **13**.

Além da patogenicidade e virulência, outros fatores importantes são a persistência e a viabilidade do SARS-CoV-2 no ambiente. Van Doremalen e colaboradores (2020) observaram que a meia vida do vírus foi de 7 h, porém, observaram persistência e viabilidade em objetos ou superfícies inanimadas variando de 5 h até 7 dias, considerando a umidade relativa e a temperatura similares aos ambientes domiciliares, laboratoriais e hospitalares. O SARS-CoV-2 foi mais estável em plástico e aço inoxidável do que em cobre e papelão. Achados similares de persistência foram relatados por Kampf e colaboradores (2020) para os Coronavírus, SARS-CoV-1, MERS e HCoV, para os quais verificaram que esse grupo de agentes podem continuar infecciosos sobre superfícies de metal, vidro ou plástico por até 9 dias **14, 15**.

Ao considerar a perspectiva da persistência e viabilidade, é particularmente importante destacar que o SARS-CoV-2 permaneceu viável em aerossóis durante mais de 3 h, embora, com uma redução no título infeccioso de $10^{3.5}$ para $10^{2.7}$, ainda sim viável para infecção **14**. Isso indica que a transmissão do SARS-CoV-2 por aerossóis é possível em ambientes onde se manipula amostras, como por exemplo, em unidades de saúde, laboratórios clínicos e diagnósticos.

É importante enfatizar que devido à incertezas relacionadas a classe de risco do SARS-CoV-2, assim como, pela patogenicidade, virulência, e persistência no ambiente, os profissionais de saúde e as equipes do laboratórios convivem com riscos e dúvidas em relação ao novo agente biológico **16, 17**. Estes profissionais, cientes que ainda não há medidas profiláticas e terapêuticas eficazes contra o SARS-CoV-2, tem constante receio de se infectar,

além de inúmeras dúvidas quanto a biossegurança laboratorial, equipamentos de proteção, manuseio e processamento seguro das amostras. Operacionalmente, estas dúvidas entre os profissionais afeta a execução de testes diagnósticos, pesquisa e desenvolvimento tecnológico. Em virtude disso, considerando que o Ministério da Saúde ainda não incluiu o SARS-CoV-2 na lista oficial da Classificação de risco dos agentes biológicos, o objetivo do presente artigo não é apenas resumir consensos de especialistas e autoridades sanitárias internacionais quanto a classe de risco do SARS-CoV-2, mas também difundir consensos dos requisitos mínimos de biossegurança principalmente para atividades em laboratórios clínicos e diagnósticos com o SARS-CoV-2.

2. METODOLOGIA

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica usando os mecanismos de pesquisa das bases de dados eletrônicos (PubMed, Scielo e Lilacs) e em sítios eletrônicos de autoridades sanitárias e centros de pesquisa do Brasil, Canadá, China, Japão, Coreia do Sul, países da Europa, Estados Unidos, entre outros. A busca incluiu artigos originais, revisões, documentos com orientações técnicas de autoridades sanitárias publicados desde o início da atual pandemia de COVID-19. Os termos de pesquisa "biossegurança", "SARS-CoV-2" e "COVID-19", foram usados em combinação com "Coronavírus", "Laboratórios", "Profissionais da saúde", "laboratórios", "EPI" e "EPC".

A pesquisa em artigos, diretrizes e documentos técnicos teve foco na biossegurança em atividades com o vírus SARS-CoV-2 do gênero *Betacoronavirus*, e incluiu: i) considerações sobre a classe de risco do vírus, ii) nível de biossegurança laboratorial recomendado; iii) equipamentos de proteção; iv) procedimentos de biossegurança; v) transporte de material biológico infectante; vi) limpeza e descarte de resíduos de laboratório. Como critério de inclusão considerou-se: i) a publicação devia tratar da biossegurança de laboratórios que manipulam o SARS-CoV-2; ii) a publicação dos artigos e revisões devia ser após o início da atual pandemia, ano de 2020, o mesmo critério não se aplicou à diretrizes e documentos regulatórios; e iii) os idiomas dos artigos considerados foram português, inglês ou espanhol, desconsiderando publicações nos demais idiomas.

É importante enfatizar que para o contexto da pandemia atual, a pesquisa documental foi realizada com o objetivo de reunir as melhores informações e diretrizes para atividades em laboratório considerando aspectos pré-analíticos, analíticos e pós-analíticos, para que as

atividades com o SARS-CoV-2 sejam realizadas com segurança, compatível com a realidade da pandemia em conformidade ao preconizado por especialistas e autoridades sanitárias nacionais e internacionais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O SARS-CoV-2 é um patógeno humano perigoso para o qual ainda não há medidas profiláticas e terapêuticas eficazes, além de ser facilmente transmitido e em geral apresentar letalidade aumentada, especialmente em pessoas com doenças crônicas **4, 6**. Estudos recentes em diversos países relatam que o quadro clínico em humanos infectados com o SARS-CoV-2 varia de leve (sem ou poucos sintomas) à grave, incluindo a morte. A letalidade média global gira em torno de 3,5% (variando entre 0,9 a 9%), dos casos identificados **4, 5, 6, 18, 19, 20**. Já para os profissionais de saúde, até 8 de abril de 2020, mais de 22.000 casos de infecção com SARS-CoV-2 foram relatados à OMS por 52 países **16**, entre os quais incluem-se profissionais da área clínica e diagnóstica, com taxa de infecção com o vírus em torno de 11% e com letalidade em torno de 0,3% **21, 22, 23, 24**. Os indicadores acima mostram a necessidade que estes profissionais necessitam adotar medidas eficazes de contenção e proteção pessoal, pois além da exposição pessoal, podem ser veículos de disseminação acidental do SARS-CoV-2 para ambientes profissionais, familiares e para a comunidade.

Neste contexto, é importante lembrar que antes de iniciar as atividades de laboratório com a SARS-CoV-2, as boas práticas de laboratório recomendam que se verifique: i) as condições e nível de biossegurança do laboratório; ii) que os equipamentos técnicos estejam calibrados e validados; iii) a presença de equipamentos de proteção coletiva (EPC); iv) a disponibilidade de equipamentos de proteção individual (EPI) dentro das especificações recomendadas; v) que os profissionais estejam qualificados técnica e psicologicamente para manipular patógeno humano perigoso; vi) que tenha procedimentos padronizados, os quais devem ser seguidos rigorosamente para todo processo, não só para as atividades operacionais, mas, incluindo também a entrada e saída do laboratório **6, 25**.

3.1. Classe de risco do SARS-CoV-2

O SARS-CoV-2 é um vírus novo, razão pela qual não se encontra formalmente classificado por nenhuma autoridade sanitária. Porém, embora, a classe de risco de SARS-CoV-

2 não tenha sido oficialmente definida até o momento da redação deste artigo, há consenso, entre a OMS e diversas autoridades sanitárias internacionais, incluindo países como a Alemanha, Bélgica, Canadá, China, Coreia do Sul, EUA, França, Irlanda, Reino Unido, Cingapura, entre outros, de classificar o SARS-CoV-2, provisoriamente, como um patógeno humano da classe de risco 3, semelhante aos SARS-CoV e MERS-CoV também pertencentes ao gênero *Betacoronavirus* **20, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32**.

No Brasil, o Ministério da Saúde, na última atualização da Classificação de risco dos agentes biológicos, no ano de 2017, classificou o Coronavírus humano 229 e o betacoronavírus OC43 como sendo de classe de risco 2, com exceção de MERS-CoV e SARS-CoV que causam Síndromes Respiratórias Agudas Graves que foram classificados como classe de risco 3 **(3)**.

Em virtude disso, apesar do atual cenário de pandemia, e considerando a classificação provisória do SARS-CoV-2 como Classe de Risco 3 pelas principais autoridades sanitárias internacionais, bem como, a publicação do Ministério da Saúde na última Classificação de Risco dos Agentes Biológicos que inclui os *Betacoronavirus* que causam Síndromes Respiratórias Agudas Graves como Classe de Risco 3, os autores do presente artigo, propõem classificar o SARS-CoV-2 como agente biológico da classe de risco 3, mantendo o proposto pelo Ministério da Saúde para Síndromes Respiratórias Agudas Graves e em consenso com as autoridades sanitárias internacionais **20, 26, 27, 28, 29, 30, 31**.

Ainda que pareça inflexível por causa da pandemia, essa visão denota tecnicamente que o SARS-COV-2, conceitualmente, se enquadra como um agente biológico da classe de risco 3, por causar doenças graves em humanos, potencialmente letais, que se propaga facilmente entre pessoas, pode se alastrar para a comunidade e para a qual usualmente existem medidas profiláticas e terapêuticas disponíveis, que inda não é o caso da Covid-19 **3, 26**.

3.2. Nível de biossegurança do laboratório para atividades com SARS-CoV-2

Embora a classificação do SARS-CoV-2 como classe de risco 3 ainda não tenha sido oficialmente adotada pelas autoridades sanitárias nacionais e internacionais, é consenso entre elas, que por se tratar de um patógeno humano perigoso que possui alta patogenicidade, virulência e longa persistência em objetos ou superfícies inanimadas, as instalações do laboratório devem corresponder ao nível de biossegurança 3 (NB3) **20, 26, 27, 28, 29, 30, 31**.

É consenso também, que o manuseio do SARS-CoV-2 selvagem infeccioso, em altas concentrações de vírus (como cultivo, propagação, isolamento e purificação do vírus) ou

grandes volumes de materiais infecciosos devem ser realizados por profissionais qualificados e apenas em laboratórios NB3 **20, 26, 27, 28, 29, 30, 31**.

É importante enfatizar que as razões que justificam o manuseio do SARS-CoV-2 em laboratórios de nível de contenção NB3, incluem: i) por ser um patógeno humano perigoso; ii) ter alta virulência; iii) fácil dispersão e transmissibilidade entre pessoas; iv) estabilidade e persistência em superfícies e objetos; v) a falta de medidas profiláticas e terapêuticas eficazes; vi) a aumentada letalidade entre pessoas com doenças crônicas, entre outras **20, 26, 27, 28, 29, 30, 31**. As inúmeras incertezas associadas ao SARS-CoV-2, o fazem ser único, diferindo dos demais Coronavírus humanos conhecidos até o momento. Ainda no que diz respeito a incertezas, estudos recentes da COVID-19 indicam que a Síndrome Respiratória Aguda Grave é a manifestação clínica dominante, embora possa evoluir para uma doença sistêmica que afeta múltiplos tecidos e órgãos e com o relato frequente de embolias, entre outras **32, 33**.

Porém, tendo consciência dessa complexidade e o quadro da pandemia, um importante consenso entre as principais autoridades sanitárias quanto ao SARS-CoV-2, é o reconhecimento que atividades que envolvem principalmente testes clínicos (de hematologia, sorologia, fixação de tecidos, etc.), testes diagnósticos, análise molecular, extração de ácido nucleico, exame patológico, processamento de amostras fixadas ou inativadas, estudos de microscopia eletrônica, inativação de amostras e atividades de menor risco, possam ser realizadas em laboratório de nível de biossegurança 2 (NB2), desde que estes possuam uma cabine de segurança biológica de classe II para a manipulação de amostras potencialmente infectadas **3, 20, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31**.

Em síntese, com esta perspectiva diante da situação de pandemia, há consenso entre a OMS e as autoridades sanitárias internacionais que o trabalho em laboratórios clínicos e de diagnóstico não propagativo pode ser realizado em laboratórios e instalações equivalentes ao NB2, com uso de cabine de segurança biológica da classe II. Já, os trabalhos de cultivo, isolamento e propagação do vírus deve ser realizado em laboratório NB3 **20, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31**.

3.3. Equipamentos de proteção para atividades com SARS-CoV-2

As autoridades sanitárias e especialistas de diversos países concordam que os equipamentos de proteção devem refletir a evolução da pandemia e a exposição aumentada de risco aos profissionais de laboratório em atividade com a SARS-CoV-2. No atual contexto, em

que o SARS-CoV-2 circula, em elevadas taxas, na comunidade, aliado à intensificação do trabalho em laboratórios, manipulação de variadas amostras de material infectante, expõe o profissional à diversos e repetidos fatores de riscos, mesmo sendo trabalho rotineiro e de domínio do profissional **3, 17, 20, 25, 33, 34**.

Também é conhecido que determinados ambientes e procedimentos de trabalho podem aumentar a exposição ao SARS-CoV-2, por exemplo, naqueles onde há a geração de gotículas e aerossóis. Em face disso, as autoridades sanitárias recomendam atenção redobrada em relação ao uso de equipamentos de proteção, tanto os de proteção coletiva quanto os de uso pessoal. Tais procedimentos, propiciam um ambiente laboratorial mais seguro, mesmo com aumento da carga de trabalho nos laboratórios **16, 17, 20, 25, 26, 34**. Pelo fato da incidência de COVID-19 variar entre Estados e Municípios no Brasil, indica que o risco não é uniforme embora o agente seja o mesmo, razão pela qual apresenta-se consensos gerais, e evidencia-se a importância da avaliação local do risco **6, 25**.

Todos esses aspectos se relacionam, e permitem inferir que o equipamento de proteção Individual (EPI) correto depende da atividade específica a ser realizada, da organização das atividades e dos fatores de risco presentes no laboratório **15, 20, 25, 26, 33, 34**. A Tabela 1 resume os principais consensos e recomendações de EPI para profissionais de laboratórios que desenvolvem atividades com o SARS-CoV-2.

Tabela 1: Consensos entre OMS e autoridades quanto à equipamentos de proteção para atividades com o SARS-CoV-2.

-
- Todo o profissional de laboratório que for trabalhar com o SARS-CoV-2, deve usar e reconhecer qual EPI é apropriado para cada ambiente e atividade com o vírus.
 - Os EPI devem incluir, luvas descartáveis, máscara resistente a fluídos, jaleco, gorro, protetor facial/olhos ou protetor contra respingos, propé descartável, entre outros, conforme definido pela avaliação de riscos local.
 - O EPI não deve ser compartilhado entre os profissionais do laboratório.
 - A checagem do uso correto do EPI antes de iniciar as atividades.
 - O uso do EPI não deve exceder as instruções do fabricante.
 - EPI reutilizável pode ser usado. Porém, deve-se seguir os procedimentos de descontaminação conforme orientação do fornecedor ou de especialista local.
 - Proteção respiratória (exemplo, N95) deve ser usada em atividades que geram aerossóis, quando estas não podem ser realizadas em cabine de segurança biológica da classe II.
 - A termino do trabalho, o EPI deve ser cuidadosamente retirado e seguido por práticas de higienização, incluindo quando possível, banho, lavagem das mãos, descontaminação de calçados, entre outras.
-

-
- Considerando a pandemia, deve-se incluir suplementarmente aos EPI, o sabão e desinfetante para mãos, desinfetante de superfícies e material de limpeza.
-

Fontes: **3, 15, 20, 25, 26, 30, 31, 33, 34.**

3.4. Procedimentos de biossegurança para atividades com SARS-CoV-2

Em circunstâncias normais, procedimentos com patógenos da classe de risco 3 ou de material altamente infeccioso, que possa gerar aerossóis, gotículas, respingos e contaminação de superfícies, devem ser realizados, no mínimo, em cabine de segurança biológica III, conforme diretrizes da OMS e normas de boas práticas de diversas autoridades sanitárias **20, 25, 26, 27, 31.**

No entanto, considerando as circunstâncias excepcionais impostas pela pandemia do SARS-CoV-2, a limitada infraestrutura de laboratórios de alta contenção e os possíveis impactos sobre a pesquisa, diagnóstico e desenvolvimento tecnológico no Brasil e no mundo, fez com que as autoridades sanitárias, baseado em uma abordagem proporcional do risco das atividades, autorizaram o uso de laboratórios NB2 que possuam uma cabine de segurança biológica de classe II **15, 20, 25, 26, 27, 29, 31, 33.**

Ao considerar essa perspectiva, é importante frisar que há um entendimento das autoridades sanitárias que embora a contenção em um laboratório NB2 não seja, por definição, tão robusta quanto a de um NB3, redobrando a atenção com os procedimentos e uso de equipamentos de proteção, excepcionalmente permite o trabalho seguro aos profissionais de laboratório, assim como, prevenir infecções secundárias e disseminação acidental subsequente do patógeno para o ambiente familiar ou para comunidade. Diante de tal concepção, na Tabela 2 resume-se alguns consensos quanto aos procedimentos em laboratórios que desenvolvem atividades com o SARS-CoV-2 **20, 25, 33.**

Tabela 2: Consensos quanto a procedimentos laboratoriais em atividades que envolvam o SARS-CoV-2.

-
- Em circunstâncias excepcionais o trabalho pode ser realizado em laboratório NB2, mas somente após uma avaliação de risco considerando a geração de partículas com o agente infeccioso no laboratório.
 - Considerando o risco do patógeno e a complexidade dos procedimentos, somente profissionais qualificados e treinados devem realizar atividades com SARS-CoV-2 sendo proibida a entrada de pessoas não qualificadas no laboratório.
-

-
- Devem ser estabelecidos procedimentos padronizados dos processos e fluxos de trabalho para pesquisa, desenvolvimento e diagnóstico do patógeno.
 - Procedimentos com material biológico infectado e com potencial para gerar aerossóis ou partículas finas devem ser realizados em cabine de segurança biológica classe II.
 - Nos casos em que procedimento que geram aerossóis ou partículas finas necessitem ser realizados fora de cabine de segurança biológica, deve ser usada máscara N95 ou equivalente.
 - A centrifugação de amostras com potencial infeccioso deve ser realizada usando rotores de centrífuga selados ou copos de amostra que são carregados e descarregados em cabine de segurança biológica classe II.
 - Concentração no trabalho e especial atenção para evitar a contaminação acidental das áreas de trabalho, equipamentos e material de laboratório com resíduos ou amostras do patógeno, independentemente do nível do laboratório.
 - Após as atividades, deve ser feita a descontaminação de superfícies de trabalho, equipamentos, recipientes e frascos com amostras, usando desinfetante com comprovada eficácia contra o SARS-CoV-2, aprovados pela autoridade sanitária.
 - Ao término das atividades e retirada dos EPI os profissionais devem proceder uma cuidadosa higienização pessoal.
-

Fontes: **7, 15, 20, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34.**

3.5. Procedimentos em caso de acidente no laboratório com o SARS-CoV-2

É notável que por mais que se redobre a atenção em laboratório com atividades do SARS-CoV-2, acidentes podem ocorrer. Entre os acidentes mais comuns incluem-se, o derramamento e respingos de amostras, geração anômala de aerossóis fora da cabine de segurança biológica, lesão por perfurocortante, quebra de frasco que contém amostras, quebra de tubos em centrífuga, exposição à amostras com o patógeno sem uso devido do EPI, incêndio, descarte inadequado de resíduos, entre outros **20, 31,33.**

No Brasil, quando um acidente envolve profissionais em atividade, faz-se necessário comunicar imediatamente às autoridades e registrar o ocorrido no formulário “Comunicação de Acidente de Trabalho” **35.** O profissional acidentado deve ser encaminhado ao serviço de saúde previsto no plano de contingenciamento da instituição. Na Tabela 3 resume-se alguns consensos quanto à medidas preventivas e procedimentos em caso de acidentes em laboratórios que desenvolvem atividades com o SARS-CoV-2.

Tabela 3: Consensos quanto a procedimentos em caso de acidentes no laboratório que envolvam o SARS-CoV-2.

-
- Os procedimentos de contingência e emergência devem ser elaborados de acordo com a avaliação de risco do laboratório.
 - Todos os profissionais do laboratório devem ser treinados em procedimentos de contingência e emergência.
 - Em caso de derramamento de material infectante, o equipamento ou área deve ser isolada e procedida a desinfecção geral, incluindo o laboratório antes de continuar com as atividades de rotina.
 - Em caso de respingos de material infectante no corpo é necessário retirar a roupa que cobre o local atingido e lavar abundantemente a região e acionar o serviço de saúde ocupacional da instituição para orientações adicionais.
 - O profissional envolvido e exposto ao material infectante deve realizar exames diagnósticos, ser monitorado ativamente ou colocado em quarentena, de acordo com as regras da unidade de saúde ocupacional da instituição e normas sanitárias locais.
 - Após qualquer acidente deve ser feita a descontaminação das dependências do laboratório, das superfícies de trabalho, equipamentos, usando desinfetante com comprovada eficácia contra o SARS-CoV-2, devidamente validados pela autoridade sanitária.
 - Profissionais do laboratório que não tiveram exposição reconhecida com material infectante durante o acidente e desenvolvem qualquer sintoma devem realizar exames diagnósticos e encaminhados à unidade de saúde ocupacional.
 - Os resíduos produzidos, decorrentes do acidente, devem ser cuidadosamente coletados e inativados antes da eliminação e disposição final.
-

Fontes: **7, 16, 20, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 33, 34.**

3.6. Transporte de material biológico infectante com SARS-CoV-2

A embalagem e o transporte de material biológico infectante que possa conter o SARS-CoV2 deve seguir as diretrizes da OMS e das autoridades sanitárias, no caso do Brasil, a RDC Nº 20, de 10 de abril de 2014, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), para Substância Biológica Categoria B, conforme resolução UN 3373, já, culturas ou vírus isolados devem ser transportados conforme a resolução UN 2814, Categoria A, que inclui material biológico infeccioso de humanos **25, 26, 34,36, 37, 38.**

Tabela 4: Consensos quanto à embalagem e transporte de material biológico infectante com SARS-CoV-2.

-
- Embalagens para o transporte devem ser de boa qualidade, forte o suficiente para suportar choques normais encontrados no transporte de material biológico.
 - Amostras com SARS-CoV-2 devem ser firmemente tampadas e acondicionadas em sacos com zíper selante, próprios para transporte de material biológico infectante, dentro de caixa criogênica à prova de vazamentos com etiqueta de risco biológico destacado.
 - No atual contexto da pandemia, em caso de dúvidas, o MS orienta seguir os procedimentos de embalagem seguindo o Guia para a Rede Laboratorial de Vigilância de Influenza.
 - Durante o transporte, as amostras devem ser mantidas refrigeradas (4-8°C) e processadas entre 24 a 72 horas após a coleta, caso não possam ser transportadas neste período, recomenda-se congelar a -70°C.
 - A embalagem e transporte de amostras para o exterior deve seguir o Regulamento de Mercadorias Perigosas da Associação Internacional de Transporte Aéreo (IATA) e os regulamentos de remessa para Substância Biológica UN 3373, Categoria B.
 - Para envio de amostras, devemos nos certificar para que o profissional que transporta as amostras seja treinado em práticas de manuseio seguro e em procedimentos de descontaminação em caso de derramamentos.
 - Ao enviar as amostras devemos notificar o laboratório que receberá as mesmas.
-

Fontes: **20, 25, 26, 31, 34, 36, 37, 38.**

3.7. Limpeza e manejo de resíduos de laboratório contendo SARS-CoV-2

De forma similar aos Coronavírus como o SARS-CoV-1 e o MERS-CoV, as evidências iniciais da literatura demonstram que o SARS-CoV-2 pode permanecer infectante em ambiente, superfícies inanimadas, incluindo superfícies e equipamentos de laboratórios, por até 7 dias **14, 15**. Essa constatação reforça a necessidade de adotar medidas e cuidados especiais na limpeza do laboratório e equipamentos. Já o manejo e descarte dos resíduos clínicos e de laboratório deve seguir a política e normas definidas pelas autoridades sanitárias, considerando a categoria do resíduo definido pela RDC 222, de 28 de março de 2018, da Anvisa **39**.

Tabela 5: Consensos quanto à limpeza e manejo de resíduos de laboratório com atividades de material biológico infectante do SARS-CoV-2.

-
- Independentemente do nível de biossegurança do laboratório, das medidas de contenção, os equipamentos e as superfícies de trabalho devem ser descontaminadas após atividades com amostras infectantes do SARS-CoV-2. Especial atenção deve ser dada à superfícies que entraram em contato com amostras ou recipientes de amostras.
-

-
- Deve-se usar solução desinfetante que tenha eficácia contra vírus de RNA envelopado, entre os quais destacam-se o hipoclorito de sódio, etanol, peróxido de hidrogênio, compostos de amônia quaternário, digluconato de clorexidina, cloreto de benzalcônio e compostos fenólicos, o uso deve seguir instruções do fabricante, e, aprovados pela autoridade sanitária.
 - A eficácia da solução desinfetante depende do ingrediente ativo, do tempo de exposição do vírus, da diluição do desinfetante e da validade da solução após o seu preparo.
 - Durante o período de maior circulação de vírus, recomenda-se a intensificação da limpeza de superfícies e objetos de uso comum, como painéis de controle, teclados, torneiras, maçanetas, botões de elevadores, etc.
 - Descarte os resíduos devem seguir a política institucional, de acordo com as normas sanitárias e a categoria do resíduo.
 - Resíduos do SARS-CoV-2, com potencial patogênico, produzidos no laboratório, devem ser cuidadosamente coletados e inativados antes da eliminação e disposição final.
-

Fontes: **20, 25, 26, 27, 28, 31, 39.**

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

No contexto da atual pandemia do SARS-CoV-2, houve um forte incremento na demanda por laboratórios de pesquisa, diagnóstico e desenvolvimento tecnológico. O novo Coronavírus foi provisoriamente classificado, pelas principais autoridades sanitárias internacionais, como sendo da classe de risco 3. Porém, o Brasil, e nenhum outro país no mundo tem estrutura e um número suficiente de laboratórios NB3 ou superiores para atender estas demandas. Além disso, em geral os NB3 são pequenos, dedicados a projetos não muito grandes e a maioria deles necessitam modernização. Os equipamentos possuem limitada capacidade analítica. Outro gargalo, ainda mais crítico, é a falta de profissionais capacitados para atender todas as demandas adicionais aos laboratórios de alta contenção, sem contar que nesses laboratórios o processo de trabalho, devido aos cuidados necessários, é mais lento e leva mais tempo para ser realizado. Para agravar ainda mais, não há capacidade, a curto prazo, de ampliar as instalações de NB3 ou a instalação de laboratórios emergenciais equivalentes.

Diante deste cenário global e da alta demanda por testes diagnósticos, por pesquisas científicas, por pesquisas de inovação e desenvolvimento tecnológico, logo nas primeiras semanas do surgimento do vírus, evidenciou-se um descompasso entre a disponibilidade de laboratórios NB3 e a real necessidade por laboratórios de alta contenção. A solução encontrada pelas principais autoridades sanitárias do mundo, incluindo a OMS, foi a de permitir a realização de testes diagnósticos, teste clínicos e pesquisas que não envolvessem a

concentração, o cultivo e a proliferação do vírus, em laboratórios NB2, mediante o uso de cabines de segurança biológica da classe de risco II.

Muito embora esta tenha sido uma solução emergencial importante, em particular para ampliar a capacidade de diagnóstico e processamento de amostras de pacientes, não solucionou o problema da mão de obra qualificada para operar com agentes biológicos altamente patogênicos, como é o caso do SARS-CoV-2. Além disso, muitos laboratórios NB2 carecem de equipamentos técnicos e de segurança apropriados para atividades com agente biológico altamente infeccioso. Esta situação, reforça a importância do presente artigo, que destaca consensos e diretrizes das autoridades sanitárias quanto a equipamentos, procedimentos, transporte, limpeza e descarte de material infectante do SARS-CoV-2, especialmente para atividades em laboratórios NB2 ou equivalentes.

Cabe ainda destacar, que pela carência na capacitação dos profissionais é ainda mais importante seguir e aplicar os consensos apresentados no presente trabalho. Isso denota que na medida que se aplica este conjunto de cuidados aumenta-se a biossegurança nos laboratórios que trabalham com material infectante do novo Coronavírus. E, assim, apesar de condições limitantes, ainda sim, no momento de crise, seja possível responder às elevadas demandas de atividades laboratoriais com a devida proteção aos profissionais em seus respectivos laboratórios, e, acima de tudo, evitar que os mesmos sejam veículos de dispersão do SARS-CoV-2, para as famílias e as comunidades, por causa de contaminação ocorrida em laboratórios.

E, por fim, reconhecemos que a pandemia do Coronavírus SARS-CoV-2 está causando imensuráveis danos pessoais, à saúde, à economia, à sociedade, a todos os países e à população mundial. Precisamos ainda, reconhecer que conhecemos muito pouco este patógeno perigoso, para o qual, não há medidas profiláticas e terapêuticas eficazes, além de, já ter causado milhões de enfermos e milhares de óbitos mundo afora. Apesar disso, a sorte do vírus está selada, pois, na corrida belicosa entre o vírus e a população mundial, enquanto o vírus tem a seu favor recorrer a mutações aleatórias, a humanidade escalou milhares de cientistas que por meio da ciência e tecnologia, produzirão informações e os antídotos pelos quais a humanidade debelará a pandemia do novo Coronavírus, e seguramente entrará para a história de grandes feitos da ciência para o bem da humanidade.

5. REFERÊNCIAS

1. Gorbalenya AE, Baker SC, Baric RS. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2. *Nat Microbiol* 2020; 5: 536–544.
2. Wan Y, Shang J, Graham R, Baric RS, Li F. Receptor Recognition by the Novel Coronavirus from Wuhan: an Analysis Based on Decade-Long Structural Studies of SARS Coronavirus. *J Virol*. 2020; 94(7):127-20.
3. Ministério da Saúde. Portaria N° 2.349 GM/MS, de 14 de setembro de 2017, aprova a publicação da Classificação de Risco dos Agentes Biológicos. *Diário Oficial da União, Brasília, Publicado em: 22 de setembro de 2017, Edição 183, Seção 1 Página 51.*
4. World Health Organization - Novel Coronavirus (2019-nCoV) Situation Report – 109 <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports/> (acessado em 08/mai/2020).
5. Worldometers. COVID-19 Coronavirus Pandemic. 2020. <https://www.worldometers.info/coronavirus/>. (acessado em 08/mai/2020).
6. Ministério da Saúde do Brasil. COVID-19 Painel Geral Coronavírus, atualizado em 08 de maio de 2020. <https://covid.saude.gov.br/>. (acessado em 08/mai/2020).
7. Organização Pan-Americana da Saúde. Folha informativa – COVID-19 (doença causada pelo novo coronavírus). https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=6101:covid19&Itemid=875. (acessado em 30/abr/2020).
8. Kim JM, Chung YS, Jo HJ. Identification of Coronavirus Isolated from a Patient in Korea with COVID-19. *Osong Public Health Res Perspect*. 2020; 11(1):3-7.
9. Jun Z. SARS-CoV-2: an Emerging Coronavirus that Causes a Global Threat. *Int. Journal of Biological Sciences*. 2020; 16(10): 1678-1685.
10. International Committee on Taxonomy of Viruses. ICTV. The Committee named the virus SARS-CoV-2 on 7 Feb 2020. <https://talk.ictvonline.org/taxonomy/>. (acessado em 29/abr/2020).
11. Xu X, Chen P, Wang J. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci*. 2020; 63(3):457-460.
12. Bansal M. Cardiovascular disease and COVID-19. *Diabetes Metab Syndr*. 2020; 14(3):247-250.
13. di Mauro G, Cristina S, Concetta R, Francesco R, Annalisa C. SARS-Cov-2 infection: Response of human immune system and possible implications for the rapid test and treatment. *Int Immunopharmacol*. 2020; 84:106519.

14. van Doremalen N, Bushmaker T, Morris DH, et al. Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1. *N Engl J Med*. 2020; 382(16):1564-1567.
15. Kampf G, Todt D, Pfaender S, Steinmann E. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J Hosp Infect*. 2020; 104(3):246-251.
16. Huang Z, Zhuang D, Xiong B, Deng DX, Li H, Lai W. Occupational exposure to SARS-CoV-2 in burns treatment during the COVID-19 epidemic: Specific diagnosis and treatment protocol. *Biomed Pharmacother*. 2020:127:110-176.
17. Bohlken J, Schömig F, Lemke MR, Pumberger M, Riedel-Heller SG. COVID-19-Pandemie: Belastungen des medizinischen Personals. *Psychiatrische Praxis* 2020; 47(04):190-197.
18. Khafaie MA, Rahim F. Cross-Country Comparison of Case Fatality Rates of COVID-19/SARS-COV-2. *Osong Public Health Res Perspect*. 2020; 11(2):74-80.
19. Jernigan DB. CDC COVID-19 Response Team. Public Health Response to the Coronavirus Disease 2019 Outbreak — United States, 2020. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2020:69:216–219.
20. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Coronavirus disease 2019 (COVID-19) in the EU/EEA and the UK – eighth update. Stockholm: ECDC. <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/covid-19-rapid-risk-assessment-coronavirus-disease-2019-eighth-update-8-april-2020.pdf>. (acessado em 30/abr/2020).
21. China CDC Weekly. The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) — China, 2020. <http://weekly.chinacdc.cn/fileCCDCW/journal/article/ccdcw/2020/8/PDF/COVID-19.pdf?referringSource=articleShare>. (acessado em 02/mai/2020).
22. Folgueira MD, Munoz-Ruiperez C, Alonso-Lopez MA, Delgado R. SARS-CoV-2 infection in Health Care Workers in a large public hospital in Madrid, Spain, during March 2020.
23. Hunter E, Price DA, Murphy E, van der Loeff IS, Baker KF, Lendrem D. First experience of COVID-19 screening of health-care workers in England. *Lancet*. 2020; 395(10234): e77-e78.
24. International Council of Nurses. High proportion of healthcare workers with COVID-19 in Italy is a stark warning to the world: protecting nurses and their colleagues must be the number one priority. <https://www.icn.ch/news/high-proportion-healthcare-workers-covid-19-italy-starkwarning-world-protecting-nurses-and>. (acessado em 02/mai/2020). (acessado em 01/mai/2020).
25. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde. Coronavírus, Covid-2019. Guia de Vigilância Epidemiológica. Biblioteca Virtual em Saúde do Ministério da Saúde, 2020. <https://www.saude.gov.br/images/pdf/2020/April/06/GuiaDeVigiEp-final.pdf>. (acessado em 25/abr/2020).

26. World Health Organization: Laboratory biosafety guidance related to coronavirus disease 2019 (COVID-19). WHO, 2020.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331138/WHO-WPE-GIH-2020.1-eng.pdf>. (acessado em 29/abr/2020).
27. Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Department of Health & Human Services. Interim Laboratory Biosafety Guidelines for Handling and Processing Specimens Associated with Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). CDC, 2020.
<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-nCoV/lab/lab-biosafety-guidelines.html>. (acessado em 26/abr/2020).
28. Government of Canada. Biosafety Advisory. SARS-CoV-2 (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus 2). 2020. <https://www.canada.ca/en/public-health/services/laboratory-biosafety-biosecurity/biosafety-directives-advisories-notifications/novel-coronavirus-january-27.html>. (acessado em 24/abr/2020).
29. Irish Health and Safety Authority. Risk Group Classification for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). HAS, 2020.
https://www.hsa.ie/eng/topics/biological_agents/biological_agents_introduction/classification_of_biological_agents/interim_statement_covid_19_virus.pdf. (acessado em 27/abr/2020).
30. Belgian Biosafety Server: Biological safety guidelines for diagnosis and research for new coronavirus (SARS-CoV-2). BBS, 2020. https://www.biosecurite.be/biosecurite-sars-cov-2?_ga=2.129741833.483969108.1585223146-1454369669.1585223146. (acessado em 28/abr/2020).
31. Government of United Kingdom. Guidance COVID-19: safe handling and processing for samples in laboratories. Updated 1 May 2020.
<https://www.gov.uk/government/publications/wuhan-novel-coronavirus-guidance-for-clinical-diagnostic-laboratories/wuhan-novel-coronavirus-handling-and-processing-of-laboratory-specimens#fnref:1>. (acessado em 01/mai/2020).
32. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72314 cases from the Chinese center for disease Control and prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-1242.
32. Bansal M. Doença cardiovascular e COVID-19. *Diabetes Metab Syndr*. 2020; 14(3):247-250.
33. Ferioli M, Cisternino C, Leo V, Pisani L, Palange P, Nava S. Protecting healthcare workers from SARS-CoV-2 infection: practical indications. *Eur Respir Rev*. 2020; 29(155):200068.
34. European Centre for Disease Prevention and Control. Personal protective equipment (PPE) needs in healthcare settings for the care of patients with suspected or confirmed 2019-nCoV. Stockholm, ECDC, 2020.
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/novel-coronavirus-personal-protective-equipment-needs-healthcare-settings.pdf>. (acessado em 02/mai/2020).

35. Brasil. Previdência - Registrar Comunicação de Acidente de Trabalho – CAT. 2020. <https://www.gov.br/pt-br/servicos/registrao-de-acidente-de-trabalho-cat>. (acessado em 02/mai/2020).
36. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 20, de 10 de abril de 2014. Dispõe sobre regulamento sanitário para o transporte de material biológico humano. [http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/\(1\)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7ffcaa258ba](http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2867956/(1)RDC_20_2014_COMP.pdf/fda4b2b9-fd01-483d-b006-b7ffcaa258ba). (acessado em 02/mai/2020).
37. International Civil Aviation Organization - ICAO. Safety. Technical instructions for the safe transport of dangerous goods by air (Doc 9284). (<https://www.icao.int/safety/DangerousGoods/Pages/technical-instructions.aspx>, (acessado em 29/abr/2020)).
38. Organização Mundial da Saúde. OMS | Guia para Regulação do Transporte de Substâncias Infecciosas 2019-2020. Organização Mundial da Saúde. Janeiro de 2019. [Citado: 28 de janeiro de 2020.] <https://www.who.int/ihr/publications/WHO-WHE-CPI-2019.20/es/>.(acessado em 27/abr/2020).
39. Agência Nacional de Vigilância Sanitária – Anvisa. Resolução de Diretoria Colegiada - RDC nº 222, de 28 de março de 2018. http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/3427425/RDC_222_2018_.pdf/c5d3081d-b331-4626-8448-c9aa426ec410. (acessado em 01/mai/2020).