

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

**Para: Unidades de saúde integradas no  
Sistema Regional de Saúde**

Considerando a orientação da Direção-Geral da Saúde n.º 015/2014 de 02/09/2014<sup>1</sup>, atualizada em 30/10/2014, sobre o assunto epigrafado, vimos pela presente reiterar a sua adaptação à RAM, levando-a ao vosso conhecimento, através da cópia que se anexa.

Mais se informa que este Instituto disponibiliza toda a informação sobre este assunto em: ["http://iasaude.sras.gov-madeira.pt/Display.cfm?ID=7791"](http://iasaude.sras.gov-madeira.pt/Display.cfm?ID=7791).

A Presidente do Conselho Diretivo



Ana Nunes

Anexo: o citado

DSPAG – AC/CO

<sup>1</sup> Circular informativa do IASAÚDE, IP-RAM n.º S 83 de 15/10/2014.

NÚMERO: 015/2014  
DATA: 02/09/2014  
ATUALIZAÇÃO 30/10/2014

---

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

PALAVRAS-CHAVE: Vírus; Ébola; Laboratório

PARA: Sistema Nacional de Saúde (Instituições públicas e privadas)

CONTACTOS: **DGS** - Unidade de Apoio à Autoridade de Saúde Nacional e à Gestão de Emergências em Saúde Pública | [uesp@dgs.pt](mailto:uesp@dgs.pt) | Telefone: 300 015 015  
**INSA** (Laboratório) - Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação | [biopreparacao@insa.min-saude.pt](mailto:biopreparacao@insa.min-saude.pt) | Telefone emergência: 911 000 612

---

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

## 1. INTRODUÇÃO

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

O diagnóstico molecular do vírus Ébola pode ser efetuado em laboratório de nível de segurança 3 (BSL-3). Ter presente que se devem reforçar as condições de segurança individuais, minimizando o risco de transmissão da infeção por via percutânea, através de mucosas e de procedimentos geradores de aerossóis, com a correta utilização de equipamento de proteção individual (EPI) de acordo com a [Orientação da DGS nº12 de 08/08/2014](#).

A partir do momento em que um caso é validado como suspeito de doença por vírus Ébola, ([Orientação nº 12 de 08/08/2014](#)), será encaminhado para um dos Hospitais de Referência<sup>1</sup>. Os procedimentos laboratoriais do doente **só poderão ser realizados por:**

---

<sup>1</sup> Os Hospitais de Referência para a doença por vírus Ébola são no Porto, o Centro Hospitalar de São João (adultos e pediatria) e em Lisboa o Hospital Curry Cabral (adultos) e o Hospital D. Estefânia (pediatria).



- Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA) para diagnóstico molecular de Ébola, Malária, Marburgo e Lassa;
- Laboratórios dos Hospitais de Referência para análises essenciais para efeitos de seguimento do doente.

O vírus Ébola é geralmente detetado por RT-PCR em amostras colhidas entre o 3º e o 10º dia após o início dos sintomas. Em caso de início de sintomas inferior a 3 dias e resultado negativo, será necessário colher nova amostra para exclusão definitiva de infeção por vírus Ébola.

As análises laboratoriais essenciais para efeitos de seguimento do doente deverão ser reduzidas ao estritamente necessário.

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

Nos hospitais de referência poderão ser feitos testes "*point of care*"<sup>2</sup> ou outros testes, nomeadamente para diagnóstico de malária, desde que sejam respeitados todos os procedimentos de segurança acima mencionados.

Os testes rápidos para diagnóstico de malária podem ter baixa sensibilidade pelo que se recomenda, se necessário, a sua repetição dois dias depois ou a confirmação de malária por outras técnicas laboratoriais.

## **2. COLHEITA E CONSERVAÇÃO DE SANGUE PARA DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE EBOLA, MALÁRIA, MARBURGO E LASSA**

A colheita e armazenamento de amostras pelos Hospitais de Referência devem seguir as seguintes orientações:

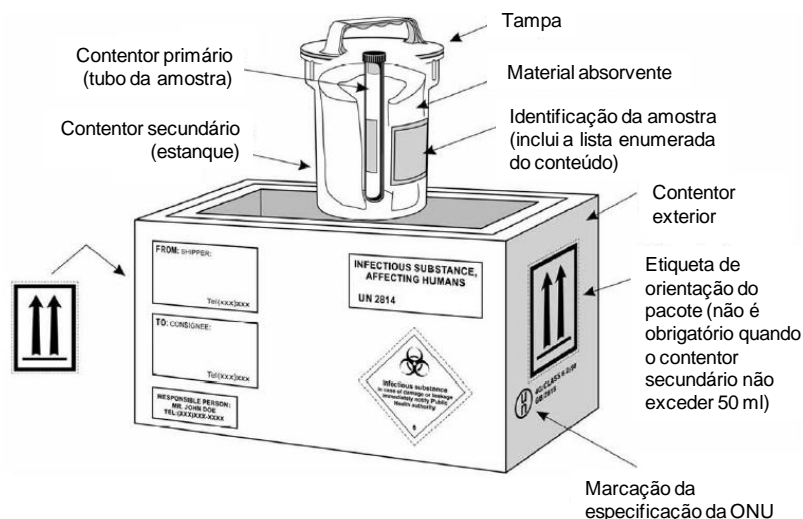
- A colheita de sangue deve ser efetuada de acordo com os procedimentos instituídos nos Hospitais de Referência e utilizando um sistema de vácuo para dois tubos de plástico com EDTA, cada um com pelo menos 4ml de sangue. Em caso de tubos pediátricos, o volume mínimo deverá ser de 1,2 ml. .

- Após a colheita, os tubos devem ser bem vedados e desinfetados exteriormente, no local da colheita, com solução de hipoclorito de sódio a 5% seguida de álcool a 70°. Por fim a tampa do tubo tem que ser selada com película parafilme.
- Depois colocar os tubos num contentor secundário, mantendo-os na posição vertical, desinfetar o contentor da mesma forma e transportar os tubos até uma câmara de segurança biológica de nível II para proceder ao acondicionamento das amostras.
- Os tubos utilizados para a colheita de sangue devem ser convenientemente identificados e datados.
- No doente, após a colheita, deve ser utilizado algodão seco para pressionar o lugar da punção.
- Todo o material utilizado nestes procedimentos, incluindo os EPI, são tratados como resíduos do grupo IV.
- Se a amostra for enviada para o INSA num período inferior a 24 horas, os tubos têm de ser mantidos refrigerados a 4°C em dupla embalagem até ao envio. No caso de se prever um período de espera superior a 24 horas, as amostras têm de ser congeladas a -70°C.

### 3. ACONDICIONAMENTO DAS AMOSTRAS PARA ENVIO PARA O INSA

Os produtos biológicos devem ser acondicionados nos Hospitais de Referência, que devem ter protocolos próprios para o efeito, por profissionais formados e devidamente equipados e seguindo as normas de embalagem de substâncias infecciosas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde<sup>3</sup> para amostras classificadas como “*Category A, UN 2814, Infectious substances affecting humans*” (ver figura 1).

<sup>3</sup> [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO\\_HSE\\_GCR\\_2012.12\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/78075/1/WHO_HSE_GCR_2012.12_eng.pdf)



**Figura 1:** Exemplo de sistema de embalagem tripla para o acondicionamento e rotulagem dos produtos biológicos para o diagnóstico de febres hemorrágicas virais (categoria A). O acondicionamento deve cumprir os seguintes procedimentos<sup>4</sup>:

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

<sup>4</sup> Os técnicos envolvidos nestes procedimentos dever fazer uma formação de acordo com o recomendado pela OMS ([http://www.who.int/ihr/publications/who\\_hse\\_ihr\\_2012.12/en/](http://www.who.int/ihr/publications/who_hse_ihr_2012.12/en/)). A pedido, o INSA disponibiliza esta formação.



- Desinfetar o exterior do contentor secundário com solução de hipoclorito a 5% seguida de álcool a 70°;
- Remover o segundo par de luvas;
- Retirar o contentor secundário da câmara de segurança biológica e colocá-lo no contentor exterior;
- Para as amostras mantidas a 4°C, entre o contentor secundário e o contentor exterior, colocar termoacumuladores; para as amostras congeladas a -70°C, entre o contentor secundário e o contentor exterior colocar gelo seco;
- Imprimir o formulário de notificação de caso efetuada no SINAVE<sup>5</sup>, envolver dentro de um saco ou mica de plástico e colocá-lo dentro do contentor exterior, que deve ter a marcação da especificação da ONU. Estes contentores, desde que devidamente descontaminados, podem ser reutilizados;
- Fechar o contentor exterior (ver figura 1);
- Identificar o contentor exterior de forma visível com a designação “Diagnóstico de vírus Ébola” seguida da identificação do hospital de referência requisitante.
- Preparar o envio para a Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação do INSA.

#### 4. ENVIO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS

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

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

O transporte da(s) amostra(s) deve ser preferencialmente efetuado por uma firma certificada e autorizada para efetuar o transporte deste tipo de mercadoria (*Category A, UN 2814, Infectious substances affecting humans*). Estes procedimentos são da responsabilidade dos Hospitais de Referência.

---

<sup>5</sup> Em caso de indisponibilidade ou impossibilidade de acesso ao SINAVE, prevista no art. 16º da Portaria nº 248/2013 de 5 de agosto, utilizar o formulário constante do Anexo I.



No entanto, se o centro hospitalar dispuser de transporte próprio, este pode ser utilizado para envio de amostras ao INSA, desde que se cumpram as indicações de acondicionamento referidas no ponto 3.

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

## REFERÊNCIAS

- Directiva 2000/54/CE do Parlamento Europeu <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2000:262:0021:0045:PT:PDF>
- World Health Organization. A guide for shippers of infectious substances, 2013. Geneva: WHO; 2013. [http://www.who.int/ihr/infectious\\_substances/en/](http://www.who.int/ihr/infectious_substances/en/)
- World Health Organization. How to safely collect blood samples from persons suspected to be infected with highly infectious blood pathogens (e. g. Ebola) <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-collect-en.pdf?ua=1>
- World Health Organization. In-Country shipment: How to Safely ship human blood samples from suspected Ebola cases within a country by road, rail and sea: <http://www.who.int/csr/resources/publications/ebola/blood-shipment-en.pdf?ua=1>
- European Network for Diagnostics of Imported Viral Diseases. Management and Control of Viral Haemorrhagic Fevers and other highly contagious viral pathogens [internet]. ENVID Scientific Advisory Committee; Available from: <http://www.envid.de/NETZ.PDF>
- Rapid Risk Assessment do ECDC contém referências para procedimentos laboratoriais [http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/ebola\\_marburg\\_fevers/Pages/index.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/ebola_marburg_fevers/Pages/index.aspx)  
<http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/ebola-outbreak-west-africa-1-august-2014.pdf>
- Public Health England. Sample testing advice for laboratory staff: <https://www.gov.uk/government/publications/ebola-sample-testing-advice-for-laboratory-staff>
- CDC Interim Guidance for Specimen Collection, Transport, Testing, and Submission for Patients with Suspected Infection with Ebola Virus Disease, August 2014 <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/hcp/interim-guidance-specimen-collection-submission-patients-suspected-infection-ebola.html>
- Canada. Public Health Ontario. Ebola Virus Disease (EVD) - Interim Sample Collection and Submission Guide. August 2014  
[http://www.publichealthontario.ca/en/eRepository/Ebola\\_Virus\\_Disease\\_\(EVD\)\\_Sample\\_Collection\\_Submission\\_Guide.pdf](http://www.publichealthontario.ca/en/eRepository/Ebola_Virus_Disease_(EVD)_Sample_Collection_Submission_Guide.pdf)
- Laboratory precautions for samples collected from patients with suspected VHF Australia 2001  
[http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-pubs-other-vhf.htm/\\$FILE/vhf\\_guide.pdf](http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/cda-pubs-other-vhf.htm/$FILE/vhf_guide.pdf)



Francisco George  
Diretor-Geral da Saúde

**ANEXO I**  
**DOENÇA POR VÍRUS ÉBOLA – FOLHA DE NOTIFICAÇÃO E ENVIO DE PRODUTOS BIOLÓGICOS PARA O INSA**

1. A notificação à DGS deverá ser feita através do SINAVE (notificação obrigatória de doença por vírus Ébola, prevista na Lei nº 81/2009 de 21 de agosto). Em situação de indisponibilidade ou impossibilidade de acesso ao SINAVE, prevista no art. 16º da Portaria nº 248/2013 de 5 de agosto, preencher este formulário e enviar cópia para [sinavehelpdesk@dgs.pt](mailto:sinavehelpdesk@dgs.pt).
2. Cópia deste formulário deve também ser enviada junto com os produtos biológicos para:  
Unidade de Resposta a Emergências e Biopreparação  
Departamento de Doenças Infecciosas  
Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge  
Avenida Padre Cruz 1649 – 016 Lisboa

<b>DADOS DO DOENTE</b>	
<b>Nome:</b>	
<b>Data de nascimento:</b>	<b>Sexo:</b> <input type="checkbox"/> F <input type="checkbox"/> M
<b>Morada:</b>	
<b>Nacionalidade:</b>	<b>Telefone:</b>
<b>Naturalidade:</b>	<b>Profissão:</b>
<b>Data de Admissão no Hospital:</b>	<b>Hora:</b>

<b>DADOS DO MÉDICO</b>	
<b>Nome:</b>	<b>Data da Notificação:</b>
<b>Hospital:</b>	<b>Serviço:</b>
<b>Telefone:</b>	<b>Email:</b>

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

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





**se sim, especifique:**

Doente                       Cadáver                       Fluídos corporais/tecidos

Data da exposição: \_\_\_\_\_

Outra informação relevante sobre o contato: \_\_\_\_\_

**Anexo I**

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

Desconhecido             Não                       Sim

**se sim, especifique:**

País: \_\_\_\_\_ Cidade: \_\_\_\_\_ Província: \_\_\_\_\_

Data da Estadia: desde \_\_\_\_\_ a \_\_\_\_\_ Chegada a Portugal em \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Natureza da viagem:             Férias             Trabalho             Outra: \_\_\_\_\_

Estadia em zonas rurais:     Não                       Sim

Acomodação:                       Hotel                       Campismo             Outra: \_\_\_\_\_

Atividades ao ar livre:             Não                       Sim                      Quais? \_\_\_\_\_

Contato com animais:             Não                       Sim                      Natureza? \_\_\_\_\_

Especifique: \_\_\_\_\_ Data do contato: \_\_\_\_\_

Suspeita/confirmação de Malária:     Não                       Sim                       Desconhecido

Profilaxia da malária:                       Não                       Sim                       Desconhecido

Se sim, especifique: Qual? \_\_\_\_\_ Data: \_\_\_\_\_

### 3. Sintomas

Sintomas (assinalar todos os existentes)	Data de início:
<input type="checkbox"/> Febre	
<input type="checkbox"/> Astenia	
<input type="checkbox"/> Anorexia	
<input type="checkbox"/> Vômitos	
<input type="checkbox"/> Diarreia	
<input type="checkbox"/> Cefaleias	
<input type="checkbox"/> Dor abdominal	
<input type="checkbox"/> Mialgias	
<input type="checkbox"/> Artralgias	
<input type="checkbox"/> Dor no peito	
<input type="checkbox"/> Tosse	
<input type="checkbox"/> Dificuldade respiratória	
<input type="checkbox"/> Odinofagia / disfagia	
<input type="checkbox"/> Confusão	
<input type="checkbox"/> Soluços	
<input type="checkbox"/> Icterícia	
<input type="checkbox"/> Dor ocular	
<input type="checkbox"/> Exantema	
<input type="checkbox"/> Prostração / coma	
<input type="checkbox"/> Conjuntivite	
<input type="checkbox"/> Faringe hiperemiada	

<b>Hemorragia, especificar:</b>	<b>Data de início:</b>
<input type="checkbox"/> Hematemeses	
<input type="checkbox"/> Retorragias, melenas ou hematoquesias	
<input type="checkbox"/> Gengivorragia	
<input type="checkbox"/> Epistáxis	
<input type="checkbox"/> Hematúria / metrorragia	
<input type="checkbox"/> Hemoptises	
<input type="checkbox"/> Local de punção ou equimoses	
<input type="checkbox"/> Outra hemorragia: (especificar)	
<b>Outras observações: (especificar)</b>	<b>Data de início:</b>