

## ORIENTAÇÃO

NÚMERO: 015/2020  
DATA: 23/03/2020  
ATUALIZAÇÃO: 24/04/2020

---

ASSUNTO: **COVID-19: Diagnóstico Laboratorial**

PALAVRAS-CHAVE: Diagnóstico laboratorial; produtos biológicos; SARS-CoV-2; COVID-19

PARA: Profissionais do Sistema de Saúde

CONTACTOS: [normas@dgs.min-saude.pt](mailto:normas@dgs.min-saude.pt)  
[resinsa@insa.min-saude.pt](mailto:resinsa@insa.min-saude.pt)

---

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:

### Diagnóstico Laboratorial

1. O diagnóstico laboratorial do SARS-CoV-2 deve ser aplicado em função dos critérios definidos nas Normas da Direção-Geral da Saúde<sup>1</sup>, nomeadamente, para confirmação de casos de COVID-19, critérios de alta e em circunstâncias particulares definidas pelo médico assistente ou pelas Autoridades de Saúde, avaliadas caso a caso.
2. O diagnóstico laboratorial é realizado nos laboratórios referenciados para o efeito, nas várias regiões de saúde, e cujas listas estão acessíveis nos *sites* da Direção-Geral da Saúde (DGS)<sup>2</sup> e do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (INSA)<sup>3</sup>. Os laboratórios referenciados para o diagnóstico de SARS-CoV-2 incluem laboratórios hospitalares, laboratórios privados e laboratórios de Universidades e Centros de Investigação e outros laboratórios habilitados para o efeito. De entre estes laboratórios, o Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge é o Laboratório de Referência Nacional.
3. Os produtos biológicos são enviados ao laboratório o mais rapidamente possível, em ambiente refrigerado (Anexo I), logo após a sua colheita.
4. A deteção laboratorial de referência do SARS-CoV-2 é feita por RT-PCR em tempo real (rRT-PCR).<sup>4,5</sup>

---

<sup>1</sup> Consultar Normas da DGS, disponíveis em <https://covid19.min-saude.pt/normas/>

<sup>2</sup> Consultar site da DGS, disponível em <https://covid19.min-saude.pt/laboratorios-referenciados/>

<sup>3</sup> <http://www.insa.min-saude.pt/category/areas-de-atuacao/doencas-infeciosas/novo-coronavirus-sars-cov-2-covid-19/>

<sup>4</sup> WHO (2020). Laboratory Testing for 2019 novel Coronavirus in suspected human cases. WHO. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>

<sup>5</sup> A possibilidade de realização do diagnóstico SARS-CoV-2 por novos métodos de diagnóstico será atualizada, nomeadamente, por testes de diagnóstico rápido que venham a ser validados e disponibilizados no mercado português.

## Colheita de Produtos Biológicos

5. A colheita de produtos biológicos deve ser efetuada por profissionais devidamente habilitados para a realização da colheita, conservação e acondicionamento (Anexo II).
6. Os profissionais de saúde que realizem colheitas de produtos biológicos devem cumprir as recomendações de utilização de Equipamento de Proteção Individual (EPI) contempladas na Norma 007/2020 da DGS<sup>6</sup> (Anexo III)
7. Para o diagnóstico laboratorial de SARS-CoV-2 está indicada a colheita de produtos biológicos do trato respiratório (superior e/ou inferior, de acordo com o contexto clínico), podendo estes ser complementados, para fins de estudo e investigação, por colheita de sangue ou de outros produtos biológicos (Anexo I).
8. Devem ser colhidos produtos biológicos do:
  - a. Trato respiratório superior
    - i. Exsudado da nasofaringe e exsudado da orofaringe colhido com zaragatoa em meio de transporte para vírus. Os dois produtos biológicos colhidos com zaragatoa devem ser colocados no mesmo tubo contendo meio de transporte para vírus (2-3 ml) ou, em alternativa, em contexto de escassez de meio de transporte, na mesma quantidade de soro fisiológico. Deve dar-se prioridade à colheita do exsudado da nasofaringe (ou aspirado nasofaríngeo ou lavado nasal) quando não for possível a colheita dos dois exsudados.
    - ii. Em contexto de insuficiência de zaragatoas, a colheita do exsudado da orofaringe e da nasofaringe pode ser realizada com a mesma zaragatoa<sup>7</sup>.
  - b. Trato respiratório inferior
    - i. Aspirado endotraqueal ou lavado bronco-alveolar, em doentes com doença respiratória grave, sob ventilação mecânica invasiva.
    - ii. Pode ser colhida expectoração se houver tosse produtiva.
9. Se analisado apenas um tipo de produto biológico, com resultado laboratorial negativo para SARS-CoV-2, em doentes internados e se o agravamento da doença o justificar, é recomendada a colheita de um segundo produto biológico para o diagnóstico laboratorial.

<sup>6</sup> Consultar Norma nº 007/2020 de 29/03/2020, disponível em <https://covid19.min-saude.pt/normas/>

<sup>7</sup><https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/covid-19-rapid-risk-assessment-coronavirus-disease-2019-eighth-update-8-april-2020.pdf>

10. Em **idade pediátrica** deve colher-se um exsudado da nasofaringe (sendo por vezes mais fácil, nestas idades, a colheita de aspirado ou lavado nasal) e uma colheita de exsudado da orofaringe.
11. Os produtos biológicos devem ser colhidos de acordo com as seguintes técnicas<sup>8</sup>:
  - a. Exsudado da nasofaringe: Inserir a zaragatoa numa das narinas paralelamente ao palato até sentir uma ligeira resistência. Deixar a zaragatoa durante alguns segundos para absorção das secreções. Remover lentamente com movimento de rotação. Pode repetir a colheita na outra narina.
  - b. Exsudado da orofaringe: Inserir a zaragatoa na cavidade oral e esfregar a parede faríngea e os pilares da orofaringe. Evitar friccionar o palato mole ou tocar com a zaragatoa na língua.
  - c. Exsudado da orofaringe e da nasofaringe com a mesma zaragatoa: Iniciar a colheita pela orofaringe e passar, em seguida, à nasofaringe seguindo as instruções anteriores.
12. Os testes serológicos quantitativos poderão suportar a investigação dos casos de infeção pelo SARS-CoV-2, revestindo-se da maior importância a avaliação e quantificação da presença de anticorpos para estudos de imunidade. Neste contexto são necessárias:
  - a. Duas amostras de soro, uma primeira da fase aguda da doença e uma segunda do período de convalescença (2-4 semanas após o início dos sintomas), para a realização de testes serológicos.
13. Em *post-mortem*, ponderar a colheita de exsudados do trato respiratório superior. Se o tubo endotraqueal estiver colocado pode também ser colhido um aspirado.
  - a. Caso a autópsia seja considerada, colher amostra de tecido da traqueia e/ou pulmonar (por incisão ou agulha) e, quando possível, das margens dos infiltrados intersticiais e/ou outro tecido ou produto biológico considerado relevante.
  - b. Caso se verifique a necessidade de proceder a colheita em *post-mortem* ou em situação de autópsia cumprir as recomendações descritas na Norma 002/2020 da DGS<sup>9</sup>.
14. Para assegurar uma boa comunicação com o laboratório, este deve ser informado da proveniência dos produtos biológicos. Os produtos biológicos devem ser corretamente identificados e acompanhados da notificação do SINAVE com a informação relativa ao doente.

<sup>8</sup> Interim Guidelines for Collecting, Handling, and Testing Clinical Specimens from Persons for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19), CDC, 19 março, 2020

<sup>9</sup> Consultar Norma 002/2020 de 19/03/2020, disponível em <https://covid19.min-saude.pt/normas/>.

## Condições de Segurança no Acondicionamento e Transporte de Produtos Biológicos

15. Os profissionais de saúde devem cumprir as regras de prevenção e controlo de infeção aplicáveis bem como a correta e adequada utilização de EPI, de acordo com a Norma n.º 007/2020 da DGS (Anexo III).
16. De modo a acondicionar e transportar corretamente os produtos biológicos, deve proceder-se da seguinte forma (Anexo II):
  - a. Após a colheita dos produtos biológicos, os tubos e recipientes devem ser bem vedados;
  - b. Os tubos e recipientes devem ser desinfetados exteriormente com solução de hipoclorito de sódio, na concentração original de cloro livre a 5%, na diluição de 1/50 (1 parte de lixívia em 49 partes iguais de água) e de seguida, com álcool a 70%<sup>10</sup>;
  - c. Por fim, a tampa do tubo deve ser selada com película parafilme;
  - d. Acondicionar os tubos e recipientes contendo os produtos biológicos, seguindo as normas de embalagem de substâncias infecciosas recomendadas pela Organização Mundial de Saúde<sup>11</sup> para amostras classificadas de categoria B (UN 3373);
  - e. Utilizar o sistema de embalagem tripla com as seguintes características:
    - i. **Contentor primário** é o que contém o produto biológico; deve estar devidamente identificado e tem de ser estanque a líquidos e a sólidos; tem de ser embalado em material absorvente suficiente para absorver todo o conteúdo em caso de quebra ou derrame;
    - ii. **Contentor secundário** é o que leva os contentores primários (tubos com os produtos biológicos) e deve ser resistente, à prova de água e estanque a líquidos e a sólidos; pode conter vários tubos, de colheitas diferentes, desde que estes sejam protegidos com material absorvente e amortecedor, individualmente e separados, a fim de evitar o contacto;
    - iii. **Contentor exterior** é a embalagem de transporte externa com material de acolchoamento adequado, onde se coloca o contentor secundário. A menor dimensão externa global utilizada deve ser de 10 x 10 cm.
  - f. O transporte dos produtos biológicos deve ser realizado, preferencialmente, por uma empresa certificada e autorizada para o efeito (Categoria B, UN 3373) ou em alternativa, em transporte próprio da unidade de saúde, cumprindo as indicações de acondicionamento anteriormente referidas;

<sup>10</sup> Consultar Orientação n.º 014/2020 de 21/03/2020, disponível em <https://covid19.min-saude.pt/orientacoes/>

<sup>11</sup>WHO (2020). Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019–2020. WHO. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325884/WHO-WHE-CPI-2019.20-eng.pdf>

IATA (2011). PACKING INSTRUCTION 650. IATA. Disponível em:

<https://www.iata.org/contentassets/b08040a138dc4442a4f066e6fb99fe2a/dgr-61-en-pi650.pdf>

- g. O transporte é da responsabilidade da unidade de saúde que realiza a colheita dos produtos biológicos, sendo obrigatório a indicação do remetente e do destinatário em documento afixado no exterior da embalagem.

## Testes Laboratoriais de Referência

17. O tratamento dos produtos biológicos e a inativação do RNA viral deve ser realizado em laboratório de biossegurança de nível 2 (BSL2) e utilizando uma câmara de fluxo laminar de classe II.
18. O diagnóstico laboratorial de referência do SARS-CoV-2 é realizado através de testes de amplificação de ácidos nucleicos, como a reação em cadeia da polimerase em tempo real, precedida de transcrição reversa (rRT-PCR)<sup>12</sup>.
19. Os testes de rRT-PCR para a deteção do SARS-CoV-2 disponíveis podem incluir como alvo os genes que codificam para a nucleoproteína (N), o invólucro (E), a espícula (S), a RNA dependente RNA polimerase (RdRp).
20. Um caso de COVID-19 considera-se confirmado laboratorialmente perante um teste que apresente:
  - a. Resultado de rRT-PCR para SARS-CoV-2 positivo para pelo menos dois alvos distintos do genoma, dos quais pelo menos um específico para SARS-CoV-2 (que distinga dos outros coronavírus, incluindo o SARS-CoV-1).
21. Se surgir um caso com um resultado de inconclusivo ou com um valor de ciclo de amplificação do rRT-PCR superior a 35, recomenda-se a repetição do teste e/ou da colheita do produto biológico.
22. Os produtos biológicos que apresentem um resultado analítico duvidoso ou que necessitem de análise complementar devem ser enviadas ao Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e outros Vírus Respiratórios do Departamento de Doenças Infecciosas, do INSA.
23. Para além dos controlos internos, para assegurar a qualidade do produto biológico (e do processo de diagnóstico molecular), sugere-se, sempre que possível, a co-amplificação e deteção de DNA humano no produto biológico. A co-deteção de DNA humano no produto biológico pressupõe que o RNA viral poderá ser detetado, se presente no momento da colheita.
24. Os laboratórios da Rede Portuguesa de Laboratórios para o Diagnóstico do novo coronavírus devem enviar ao INSA uma seleção de amostras positivas para SARS-CoV-2 que representem diferentes momentos da epidemia, grupos etários e áreas geográficas, em número a

---

<sup>12</sup> World Health Organization (WHO). Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance - 19 March 2020. Geneva: WHO; 2020 [11 March 2020]. Disponível em: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>

combinar com o laboratório; e as 5 primeiras amostras negativas para estudo/investigação e avaliação da comparabilidade de resultados.

## Sequenciação do Genoma Viral<sup>13,14</sup>

25. A metodologia de sequenciação de nova geração (NGS) está disponível no INSA, para a realização do estudo do genoma do SARS-CoV-2.
26. Para além da confirmação de casos de infeção pelo SARS-CoV-2, a integração da análise genómica do novo coronavírus com a informação epidemiológica e clínica dos casos de COVID-19 é crítica para o estudo/investigação e controlo da transmissão do vírus na comunidade, monitorização da doença e de marcadores genómicos associados à gravidade da doença.
27. O conhecimento do genoma viral permite ainda avaliar o desempenho dos testes de diagnóstico laboratorial.
28. É fortemente recomendada a partilha das sequências virais em bases de dados, como o GISAID, que garantem os direitos de autor e de submissão.
29. Devem ser enviadas ao Laboratório Nacional de Referência para o Vírus da Gripe e outros Vírus Respiratórios do Departamento de Doenças Infecciosas do INSA, para sequenciação do genoma viral, uma seleção de amostras positivas de casos de COVID-19 (em número a ser combinado com os laboratórios) que representem diferentes momentos da epidemia, grupos etários e áreas geográficas.

## Testes de Diagnóstico Rápido

30. Existem no mercado testes de diagnóstico rápido de SARS-CoV-2, mas a informação sobre o seu desempenho clínico é ainda limitada. Os testes rápidos qualitativos podem fornecer resultados em 10-30 minutos, são testes de baixa complexidade de execução, mas devem ser realizados em laboratórios hospitalares e em unidades prestadoras de cuidados de saúde por profissionais de saúde com formação.
31. A disponibilidade de testes rápidos de diagnóstico para a infeção pelo SARS-CoV-2 é monitorizada a nível nacional pelo INFARMED e a nível internacional pela *Foundation for Innovative New Diagnostics* (FIND)<sup>15</sup> em colaboração com a OMS.
32. A validação clínica do desempenho dos testes rápidos para a deteção qualitativa de antígenos SARS-CoV-2 deve ser efetuada por comparação com o teste de referência de rRT-

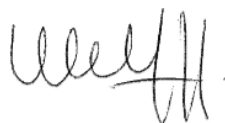
<sup>13</sup> ECDC. Novel coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic: increased transmission in the EU/EEA and the UK – sixth update, ECDC, 12 março, 2020. Disponível em: <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/RRA-sixthupdate-Outbreak-of-novel-coronavirus-disease-2019-COVID-19.pdf>

<sup>14</sup> Plano Nacional de Preparação e Resposta à Doença por novo coronavírus (COVID-19), DGS, 2020. Disponível em: <https://www.dgs.pt/documentos-e-publicacoes/plano-nacional-de-preparacao-e-resposta-para-a-doenca-por-novocoronavirus-covid-19-pdf.aspx>

<sup>15</sup> Centro colaborador da OMS, com listagem acessível no seguinte link: <https://www.finddx.org/covid-19/pipeline/>

PCR, num número suficientemente grande de indivíduos da população-alvo, antes de os introduzir como um teste de diagnóstico autónomo, tal como é recomendado pelo ECDC<sup>16</sup>.

33. Os testes indiretos de deteção qualitativa de anticorpos SARS-CoV-2 devem ser utilizados com precaução, uma vez que se desconhece ainda qual o tipo e a duração dos anticorpos que são desenvolvidos no decurso da infeção e não é possível inferir sobre a sua qualidade neutralizante e/ou capacidade de induzir imunidade.



Graça Freitas  
Diretora-Geral da Saúde

---

<sup>16</sup> <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/Overview-rapid-test-situation-for-COVID-19-diagnosis-EU-EEA.pdf>

## Anexo I Transporte e acondicionamento de produtos biológicos

Tipo de produto biológico	Dispositivo de colheita	Transporte	Acondicionamento	Observações
<b>Exsudado da nasofaringe e orofaringe</b>	Zaragatoa de dracon ou floclada	2-8°C	≤5 dias: 2-8°C ≥5 dias: -70°C	Zaragatoas da naso e orofaringe devem ser colocadas no mesmo tubo com meio de transporte viral**
<b>Expetoração</b>	Contentor estéril	2-8°C	≤48 horas: 2-8°C ≥48 horas: -70°C	
<b>Lavado bronco-alveolar</b>	Contentor estéril	2-8°C	≤48 horas: 2-8°C ≥48 horas: -70°C	Amostra de importante valor para o diagnóstico laboratorial
<b>Aspirado endotraqueal, nasofaríngeo, ou lavado nasal</b>	Contentor estéril	2-8°C	≤48 horas: 2-8°C ≥48 horas: -70°C	
<b>Sangue (soro)*</b>	Tubo seco (3-5 ml)	2-8°C	≤5 dias: 2-8°C ≥5 dias: -70°C	Pares de soros: agudo-1ª semana de doença; convalescença-2-3 semanas depois
<b>Tecidos de biópsia*</b>	Contentor estéril com soro fisiológico ou meio de transporte para vírus	2-8°C	≤5 dias: 2-8°C ≥5 dias: -70°C	
<b>Fezes*</b>	Contentor estéril	2-8°C	≤5 dias: 2-8°C ≥5 dias: -70°C	
<b>Urina*</b>	Contentor estéril	2-8°C	≤5 dias: 2-8°C ≥5 dias: -70°C	

\*Em casos pontuais poderá ser acordado a colheita de produtos biológicos complementares

\*\*Em alternativa, em contexto de escassez de meio de transporte para vírus, pode ser utilizado soro fisiológico na mesma quantidade



## Anexo II

### Diagnóstico laboratorial de infeção por SARS-CoV-2

#### Procedimento para a realização de colheita de produtos biológicos e encaminhamento ao laboratório

**I. Produtos biológicos respiratórios:** Devem ser enviados 2 produtos biológicos respiratórios de diferente natureza para o diagnóstico de infeção por SARS-CoV-2. Juntar formulário **de notificação SINAVE**.

**Produtos biológicos respiratórios:**

- Exsudado da nasofaringe colhido com zaragatoa;
- Exsudado da orofaringe colhido com zaragatoa;
- Expetoração;
- Aspirado endotraqueal ou lavado bronco-alveolar.

Quando não for possível a colheita dos dois exsudados, deve dar-se prioridade à colheita do exsudado da nasofaringe

Em contexto de insuficiência de zaragatoas, a colheita do exsudado da orofaringe e da nasofaringe pode ser realizada com a mesma zaragatoa

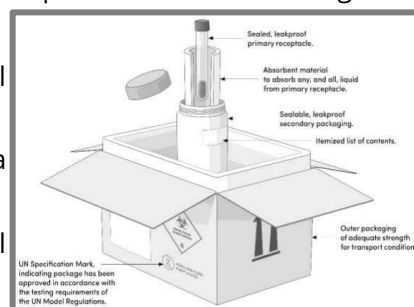
### II. Instruções de colheita dos exsudados:

- **Exsudado da nasofaringe:** Inserir a zaragatoa numa das narinas paralelamente ao palato até sentir uma ligeira resistência. Deixar a zaragatoa durante alguns segundos para absorção das secreções. Remover lentamente com movimento de rotação. Repetir a colheita na outra narina.
- **Exsudado da orofaringe:** Inserir a zaragatoa na cavidade oral e esfregar a parede faríngea e os pilares da orofaringe. Evitar friccionar o palato mole ou tocar com a zaragatoa na língua.
- **Exsudado da orofaringe e da nasofaringe com a mesma zaragatoa:** Iniciar a colheita pela orofaringe e passar, em seguida, à nasofaringe, seguindo a instruções anteriores.

### III. Acondicionamento de produtos biológicos:

Desinfetar exteriormente os tubos e recipientes no local da colheita. Selar com parafilme as tampas dos tubos. Utilizar sistema de embalagem tripla (categoria B, UN 3373). Transporte em ambiente refrigerado.

- **Contentor primário** (contém a amostra, envolver em material absorvente e colocar em saco plástico);
- **Contentor secundário** (resistente, à prova de água, estanque a líquidos e sólidos);
- **Contentor exterior** (embalagem de transporte externa, material acolchoado, dimensão mínima 10x10 cm).



### IV. Transporte:

Preferencialmente por empresa autorizada para o transporte de substâncias de categoria B (UN 3373), ou em transporte próprio da unidade de saúde.

## Anexo III Tipo de Equipamento de Proteção Individual (EPI) por procedimentos<sup>17</sup>

<b>EPI para a colheita de produtos biológicos</b>
Respirador N95 ou FFP2 ou equivalente
Bata impermeável e comprida
Luvas (de preferência, duplo par de luvas)
Proteção ocular
Touca
<b>EPI para quem manipula os produtos biológicos</b>
Profissional que trabalha em câmara de fluxo laminar classe 2: Máscara cirúrgica, óculos, bata impermeável, luvas e calçado fechado ou cobre-botas.  Na ausência de câmara de fluxo laminar utilizar o mesmo EPI anteriormente descrito, substituindo a máscara cirúrgica por respirador FFP2.

<sup>17</sup> Consultar Norma nº 007/2020 de 29/03/2020, disponível em <https://covid19.min-saude.pt/orientacoes/>