



NORMA TÉCNICA	Número: 002	Atualizada em: 20/09/2022
Assunto: ORIENTAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DAS ARBOVIROSES	Estabelecido em: 02/03/2022	
Setor: SUPERINTENDÊNCIA DE ATENÇÃO ESPECIALIZADA/SUPERINTENDÊNCIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE		
Elaborado por: APOIO DIAGNÓSTICO/VIGILÂNCIA EPIDEMIOLOGICA EM SAÚDE/ATENÇÃO BÁSICA		
Aprovado por: SAE/SVS/SAS		
Objetivo: ORIENTAR SOBRE A REALIZAÇÃO DOS EXAMES PARA DIAGNÓSTICO DAS ARBOVIROSES		

Atualização: Disponibilidade da sorologia para Dengue após o 6º do início dos sintomas. A realização do exame de RT PCR para diagnóstico de arboviroses até o 5º dia do início dos sintomas continua como padrão de diagnóstico.

ORIENTAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS PARA DIAGNÓSTICO DAS ARBOVIROSE

Conforme guia de Vigilância em saúde, a classificação dos casos de Chikungunya deve ser realizada *preferencialmente* por critério laboratorial. Para o vírus da Zika a classificação dos casos deve ser realizada *obrigatoriamente* por critério laboratorial, assim como os encerramentos de óbitos, de casos em gestantes, crianças e idosos.

1. DENGUE

1.1 Sorologia

Em período não epidêmico a coleta deve seguir os seguintes critérios:

- Até o 5º dia do início dos sintomas realizar exame direto - Biologia molecular. Após o 6º dia, solicitar sorologia para dengue.
- Casos suspeitos de dengue com sinais de alarme – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.
- Casos suspeitos de dengue grave e óbitos por dengue – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.

IMPORTANTE: No período epidêmico, também se consideram casos prováveis de dengue aqueles casos notificados que não puderam ser investigados, pois se consideram que todos possuem vínculo clínico-epidemiológico. **Nesta situação, fica estabelecido que a cada 10 (dez) casos suspeitos será coletada 01(uma) amostra**

1.1.1 Orientações para a coleta de amostras

O paciente deve ser orientado a procurar o posto de coleta de referência do seu distrito com a ficha de notificação/Investigação Dengue para coleta de material.

Horário: 09:00 as 11:00 horas

1.1.2 Resultado

Os resultados serão disponibilizados em pastas compartilhadas no one-drive com as Unidades Básicas de Saúde e estarão disponíveis no GAL para consulta da epidemiologia.



1.2 Pesquisa do antígeno NS1 (NS1AG) para dengue disponível somente nas UPA e Complexo Hospitalar:

A proteína não estrutural 1, presente nos vírus dengue (DENV), mais conhecida como NS1Ag é uma glicoproteína imunogênica que atua na fase precoce da infecção viral. Em sua forma solúvel pode ser detectada nas amostras coletadas em fase aguda da doença por testes imunocromatográficos e ensaios imunoenzimáticos (ELISA). O NS1Ag é um ótimo biomarcador sorológico para o diagnóstico de dengue e sua detecção confirma a infecção pelo DENV. Entretanto, testes negativos não descartam a infecção por dengue.

A pesquisa do NS1Ag deverá ser realizada em amostras de pacientes com até 5 dias de sintomas, preferencialmente coletar amostra até o 3º dia do início dos sintomas. Coletar amostras de todos os casos graves que necessitem do diagnóstico precoce da doença.

O Exame é realizado pelo laboratório de análises clínicas mediante notificação. O teste negativo não descarta infecção pelo vírus da Dengue, e a sorologia deverá ser solicitada a partir do 6º dia após início dos sintomas. Solicitar o exame de biologia molecular para todas as amostras de NS1.

1.3 Biologia molecular

Os exames de biologia molecular (RT-qPCR), além do diagnóstico do agravo, permitem a identificação do sorotipo do vírus dengue (DENV) circulante, assim como a identificação da circulação dos vírus zika (ZIKV), chikungunya (CHIKV) e febre amarela (YFV). Os testes RT-qPCR também são a base para estudos genômicos que apoiam os modelos de previsão e dispersão dos arbovírus circulantes, oferecendo subsídio qualificado para a intensificação das ações de vigilância, prevenção e controle vetorial, além das demais tomadas de decisão das Políticas Públicas de Saúde.

Um dos diferenciais da biologia molecular em relação aos métodos sorológicos é a possibilidade de detecção precoce da infecção, pois a análise pode ser realizada logo no início da fase aguda da doença (até o 5º dia do início dos sintomas), o que geralmente coincide com o momento em que o cidadão busca o atendimento médico e, por isso, a biologia molecular tem sido utilizada cada vez mais na realização de análises diagnósticas. Nota Técnica nº 22/FUNED/DIOM/2022

1.3.1 Procedimento de coleta

O período recomendado para a coleta de amostras para o diagnóstico direto de arboviroses por biologia molecular é até o 5º (quinto) dia a partir do início dos sintomas. Casos suspeitos de febre amarela devem ser coletados até o 10º dia.

Diferente das amostras coletadas para sorologia, as amostras coletadas para biologia molecular devem ser CONGELADAS APÓS A COLETA, em freezer -70°C ou em nitrogênio líquido, e mantidas congeladas até o recebimento no laboratório.

1.3.2 Material de Coleta

- **Coleta de Soro:** Coletar sangue total (5mL em crianças, 10mL em adultos) em tubo sem anticoagulante, e centrifugar para obtenção do soro. Se o laboratório não dispuser de



centrífuga, deixar retraindo o coágulo espontaneamente. Após, transferir 2-3mL do soro para um criotubo, com identificação do paciente correspondentes ao tubo primário.

As amostras devem ser acondicionadas SOMENTE EM CRIOTUBOS (tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação).

Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de víscera, e cobrir o rótulo com fita transparente. Se o armazenamento e o transporte não for feito em botijão de nitrogênio, é preciso envolver o tubo em gaze ou saco plástico e utilizar gelo seco durante o transporte.

- **Coleta de líquido (para os casos com manifestações neurológicas):** Realizar punção lombar conforme procedimento médico: 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR, até 15 dias após o início dos sintomas. As amostras devem ser acondicionadas SOMENTE EM CRIOTUBOS (tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação). Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de víscera, e cobrir o rótulo com fita transparente. Se o armazenamento e o transporte não for feito em botijão de nitrogênio, é preciso envolver o tubo em gaze ou saco plástico e utilizar gelo seco durante o transporte.
- **Coleta de Vísceras (casos de óbito):** Coletar 2 a 3cm³ de fragmentos de: fígado, cérebro, rim, pulmão, coração e linfonodo, à fresco, logo após o óbito (no máximo 48 horas). As amostras devem ser acondicionadas separadamente, SOMENTE EM CRIOTUBOS (tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação), sem adição de conservantes ou aditivos. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de víscera, e cobrir o rótulo com fita transparente. Se o armazenamento e o transporte não for feito em botijão de nitrogênio, é preciso envolver o tubo em gaze ou saco plástico e utilizar gelo seco durante o transporte.

NOTAS: Amostras enviadas no mesmo dia da coleta podem ser conservadas refrigeradas (2 a 8°C), se encaminhadas para a FUNED em até, no máximo, 4 horas após a coleta. Na impossibilidade de conservar as amostras em botijão de nitrogênio líquido ou freezer -70°C, pode-se manter a amostra armazenada a -20 °C por até 7 dias; após este período, é indispensável conservar a -70 °C ou em botijão de nitrogênio líquido. Amostras enviadas fora dos critérios elencados acima e em desacordo com as especificações do Manual de Coleta, Acondicionamento e Transporte de Material Biológico para Exames Laboratoriais da FUNED não serão processadas. **ATENÇÃO: NÃO UTILIZAR TUBOS DE VIDRO OU COM TAMPA TIPO ROLHA.**

1.3.3 Cadastro das Amostras

As amostras devem ser enviadas para a FUNED acompanhadas da ficha de notificação correspondente, com todos os campos devidamente preenchidos com letra legível, sem abreviaturas ou rasuras. O cadastro no Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL deve ser para: Biologia Molecular (RT-qPCR) e não mais a sorologia (pesquisa de anticorpos).

2. CHIKUNGUNYA

Deve ser coletada amostra de todos os casos suspeitos até que se tenha uma situação de epidemia, quando será estabelecida uma cota para coleta e testagem.

Até o 5º dia do início dos sintomas solicitar o exame de biologia molecular, após o 6º dia, solicitar sorologia.



Observação: Os fragmentos de vísceras devem ser acondicionados separadamente em frascos estéreis, sem adição de conservantes ou aditivos, devidamente identificados (tipo de víscera, data da coleta e nome do paciente) e congelados imediatamente no freezer -70°C ou no nitrogênio líquido. Para o transporte deste material, é indispensável usar gelo seco. Os tubos deverão ser de plástico, esterilizados, com tampa de rosca, devidamente rotulados (e o rótulo envolvido com fita transparente), envolvidos por gaze ou saco plástico, antes de serem colocados no gelo seco. Para exames de histopatologia e imunohistoquímica, as amostras serão fixadas no formol (solução formalina tamponada 10%) e devem ser mantidas e transportadas em temperatura ambiente. É necessário que o volume de formol seja pelo menos duas vezes maior que o da amostra, para garantir sua conservação.

2.1 Período ideal de coleta

- Pesquisa de anticorpos IgM: após o 6º (preferencialmente após o 8º) dia de início de sintomas até o 45º dia.
- Pesquisa de anticorpos IgG: a partir do 21º dia de início de sintomas.
- Biologia Molecular: Do 1º (primeiro) ao 8º (oitavo) dia após o aparecimento dos primeiros sintomas, preferencialmente até o 5º dia.
- A urina pode ser colhida até o 15º dia de início de sintomas.

2.2 Orientações para a coleta de amostras

O paciente deve ser orientado a procurar o posto de coleta de referência do seu distrito com a ficha de notificação/Investigação Dengue para coleta de material.

Horário: 09:00 as 11:00 horas

2.3 Resultados

Os resultados serão disponibilizados em pasta compartilhada com as Unidades Básica de Saúde e estará disponível no GAL para consulta da epidemiologia.

3. ZIKA VÍRUS

Deve ser coletado o exame de biologia molecular até o 5º dia do início dos sintomas. Após o 6º dia solicitar sorologia.

3.1 Orientações para a coleta de amostras

O paciente deve ser orientado a procurar o posto de coleta de referência do seu distrito com a ficha de notificação/Investigação Dengue para coleta de material.

Horário: 09:00 as 11:00 horas

3.2 Formulários requeridos

3.2.1 Investigação de paciente com suspeita de Zika:

- Deve ser enviada, junto à amostra e à requisição feita no GAL, a ficha de notificação/conclusão;



- b. Investigação de mãe e RN com suspeita de microcefalia: para os casos de microcefalia, deve ser enviada junto à amostra e à requisição feita no GAL, ficha de notificação/conclusão para a mãe e ficha de Registro de Eventos de Saúde Pública (www.resp.saude.gov.br) devidamente preenchida para o RN.

3.3 Resultados

Os resultados serão disponibilizados em pasta compartilhada com as Unidades Básicas de Saúde e estará disponível no GAL para consulta da epidemiologia.

4. FEBRE AMARELA

Todos os pacientes com suspeita de infecção pelo vírus da Febre Amarela devem ter material coletado para a análise laboratorial, levando-se em consideração a descrição de caso suspeito pelo Ministério da Saúde.

4.1 Exames:

- a. MAC-ELISA;
- b. Biologia Molecular;
- c. Histopatológico e imunohistoquímica (em casos de óbitos).

OBSERVAÇÃO: Os fragmentos de vísceras devem ser acondicionados separadamente em frascos estéreis, sem adição de conservantes ou aditivos, devidamente identificados (tipo de víscera, data da coleta e nome do paciente) e congelados imediatamente no freezer -70°C ou no nitrogênio líquido. Para o transporte deste material, é indispensável usar gelo seco. Os tubos deverão ser de plástico, esterilizados, com tampa de rosca, devidamente rotulados (e o rótulo envolvido com fita transparente), envolvidos por gaze ou saco plástico, antes de serem colocados no gelo seco. Para exames de histopatologia e imunohistoquímica, as amostras serão fixadas no formol (solução formalina tamponada 10%) e devem ser mantidas e transportadas em temperatura ambiente. É necessário que o volume de formol seja pelo menos duas vezes maior que o da amostra, para garantir sua conservação.

4.2 Período ideal de coleta

- a. Biologia Molecular do 1º (primeiro) ao 8º (oitavo) dia após o aparecimento dos primeiros sintomas, preferencialmente até o 5º dia.
- b. Sorologia após o 6º (preferencialmente após o 8º) dia de início de sintomas até o 45º dia.

4.3 Formulários requeridos

As amostras deverão ser acompanhadas das fichas epidemiológicas. Todo caso suspeito deve ser notificado através da ficha de notificação/investigação de Febre amarela. Esta ficha pode ser adquirida na GRS do município ou pela internet.

4.4 Resultados

Os resultados serão disponibilizados em pasta compartilhada com as Unidades Básicas de Saúde e estará disponível no GAL para consulta da epidemiologia.