

## NOTA TÉCNICA Nº 004/2022 INSTRUÇÕES PARA COLETA E ENVIO DE MATERIAL BIOLÓGICO DOS CASOS SUSPEITOS DE INFECÇÃO PELO MONKEYPOX VIRUS AO LACEN/PI

Teresina, 21 de Junho de 2022

**ASSUNTO:** Recomendações sobre procedimentos para coleta e envio de amostras de casos suspeitos MONKEYPOX VIRUS para o LACEN-PI.

### 1. DEFINIÇÃO DE CASO:

**Caso suspeito:** Indivíduo de qualquer idade que, a partir de 15 de março de 2022, apresente início súbito de febre, adenomegalia e erupção cutânea aguda do tipo papulovesicular de progressão uniforme. **ATENÇÃO!** É fundamental uma investigação clínica e/ou laboratorial no intuito de descartar as doenças que se enquadram como diagnóstico diferencial\*.

**Caso provável:** Indivíduo que atende à definição de caso suspeito E um ou mais dos seguintes critérios:

- 1- Ter vínculo epidemiológico (exposição próxima e prolongada sem proteção respiratória; contato físico direto, incluindo contato sexual; ou contato com materiais contaminados, como roupas ou roupas de cama) com caso provável ou confirmado de Monkeypox, desde 15 de março de 2022, nos 21 dias anteriores ao início dos sinais e sintomas OU
- 2- Histórico de viagem para país endêmico ou com casos confirmados de Monkeypox nos 21 dias anteriores ao início dos sintomas. E sem confirmação laboratorial. Caso confirmado: Indivíduo que atende à definição de caso suspeito ou provável que é confirmado laboratorialmente para o vírus da Monkeypox por teste molecular (qPCR e/ou sequenciamento).

**Caso descartado:** Caso suspeito que não atende ao critério de confirmação para Monkeypox ou que foi confirmada para outra doença\* por meio de diagnóstico clínico ou laboratorial.

\*Varicela, herpes zoster, sarampo, zika, dengue, Chikungunya, herpes simples, infecções bacterianas da pele, infecção gonocócica disseminada, sífilis primária ou secundária, cancroide, linfogranuloma venéreo, granuloma inguinal, molusco contagioso (poxvirus), reação alérgica (como a plantas).

### 2. ORIENTAÇÕES PARA COLETA, TRANSPORTE E ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS CLÍNICAS

#### 2.1 Tipos de Amostras (para confirmação diagnóstica):

a) **Material vesicular (Secreção de Vesícula):** O ideal é a coleta na fase aguda ainda com pústulas vesiculares. É quando se obtém carga viral mais elevada na lesão. Portanto, swab do conteúdo da lesão é o material mais indicado. Swabs estéreis de nylon, poliéster ou Dacron são os indicados. Também se pode puncionar com seringa o conteúdo da lesão, mas prefere-se o swab para evitar a manipulação de perfurocortantes. **Colocar o swab preferencialmente em tubo seco, SEM líquido preservante**, uma vez que os poxvírus mantêm-se estáveis na ausência de qualquer meio preservante. Se optar por usar algum líquido preservante, indica-se o VTM (meio de transporte viral), no máximo cerca de 300 ul, porém o **ideal é manter o swab sem líquido** (4). Havendo lesões na cavidade bucal, pode-se recolher material das lesões com swab.

b) **Crosta (Crosta de Lesão):** Quando o paciente é encaminhado para coleta em fase mais tardia na qual as lesões já estão secas, o material a ser encaminhado são crostas das lesões, preferencialmente optar pelas crostas menos secas, ou seja, coletar aquelas em fase mais inicial de cicatrização, pois a chance de detecção de genoma viral ou da partícula viral é maior. As crostas devem ser armazenadas em frascos limpos SEM líquido preservante (neste caso, o uso de qualquer líquido preservante reduz em muito as chances de detecção).

## 2.2 Observações:

- a) Sangue não é um material indicado para detecção de poxvírus, pois o período de viremia alta é anterior ao aparecimento das pústulas que, normalmente, é quando o paciente comparece a um posto de atendimento;
- b) A coleta de soro é importante para verificar a soroconversão. Para fins de diagnóstico, só se for associado a uma clínica muito clara e sugestiva;
- c) O principal diagnóstico diferencial de infecção por Monkeypox vírus é a Varicela.

## 2.3 Armazenamento:

Para o armazenamento, todos os materiais devem ser mantidos congelados a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  (ou temperaturas inferiores), preferencialmente, por 1 mês ou até mais. Na ausência de freezers, pode-se manter em geladeira ( $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por até 7 dias. Este deve ser feito para chegada em no máximo 48 horas para que o transporte possa ser feito de forma refrigerada apenas com gelo-pack. Caso contrário, enviar congelado.

### 3. ORIENTAÇÕES DE COLETA, ARMAZENAMENTO E ENVIO DAS AMOSTRAS PARA O LACEN-PI.

Amostra Clínica	Tipo de Diagnóstico	Procedimento de Coleta	Armazenamento e Conservação	Acondicionamento e Transporte	Observações
Secreção de Lesão	Biologia Molecular (qPCR e Sequenciamento)	Coletar amostras de secreção das lesões com swab de dácron, poliéster ou nylon secos, em fase aguda da doença. Sugere-se coletar secreção de mais de uma lesão.	Armazenar, preferencialmente em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte. Se necessário, utilizar 300 µl de meio de transporte viral (VTM).  Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica com gelo reciclável.	Os frascos devem, obrigatoriamente, conter rótulo com as seguintes informações: nome completo do paciente, data da coleta e natureza da amostra (tipo de espécime biológico). A confiabilidade dos resultados dos testes laboratoriais depende dos cuidados durante a coleta, o manuseio, o acondicionamento e o transporte dos espécimes biológicos.
Crosta de Lesão	Biologia Molecular (qPCR e Sequenciamento)	Coletar fragmentos ou crosta ressecada da lesão em fase mais tardia da doença. Sugere-se coletar crosta de lesão de mais de uma lesão.	Armazenar em tubo de transporte seco, sem adição de meios de transporte.  Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.		
Sangue Total	Biologia Molecular	Coletar cerca de 5 ml (criança) e 10 ml (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, para obtenção do soro ou com EDTA para obtenção do plasma, sendo a coleta realizada até o 5º dia a partir do início dos sintomas. Aliquotar 2-3 ml do soro/plasma para realizar testes moleculares.	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação.  Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.		

Amostra Clínica	Tipo de Diagnóstico	Procedimento de Coleta	Armazenamento e Conservação	Acondicionamento e Transporte	Observações
Secreção de Oro/Nasofaringe	Biologia Molecular	Coletar 3 swabs, sendo 2 de secreção nasofaringe e 1 de secreção de orofaringe e acondicionar em tubos diferentes.	Coletar as amostras utilizando swab ultrafino (alginatado ou Rayon), com haste flexível, alginatado e estéril na narina do paciente até encontrar resistência na parede posterior da nasofaringe. Realizar movimentos rotatórios por 10 segundos e, em seguida, retirá-lo.  Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica com gelo reciclável.	Os frascos devem, obrigatoriamente, conter rótulo com as seguintes informações: nome completo do paciente, data da coleta e natureza da amostra (tipo de espécime biológico). A confiabilidade dos resultados dos testes laboratoriais depende dos cuidados durante a coleta, o manuseio, o acondicionamento e o transporte dos espécimes biológicos.
Urina	Biologia Molecular	Coletar até 10ml até 15 dias após início dos sintomas	Coletar a urina em recipiente seco, sem adição de conservantes.  Refrigerar (2-8°C) ou congelar (-20°C ou menos) dentro de uma hora após a coleta; -20°C ou menos após 7 dias.		

### 3.1 Fluxo de coleta/envio de amostras

1. **Material vesicular (Secreção de Vesícula):** Swab + tubo seco;  
2. **Crosta (Crosta de Lesão):** Raspado ou fragmento (tubo seco);  
3. **Soro:** 03 ml (tubo com tampa amarela ou vermelha);  
4. **Urina:** 15 ml (frasco coletor);  
5. **Secreção Naso/Orofaringe:** 2 Secreção Nasofaringe / 1 Secreção Orofaringe (swab + tubo com meio de transporte).

Solicitação exame (Sistema GAL): *Monkeypox virus*

Envio para o LACEN-PI

Observação: O LACEN-PI fornecerá o kit para coleta, composto por: 5 tubos e 4 swabs de Rayon. O tubo para sangue total e frasco para urina deverá ser disponibilizado pela própria unidade.

### 4. ORIENTAÇÕES PARA CADASTRO NO GAL

#### SOLICITAÇÃO DE EXAMES (Diagnóstico Diferencial)

O paciente com suspeita de infecção pelo *Monkeypox virus* admitido em uma unidade de saúde deve ter amostras coletadas de Material vesicular (Secreção de Vesícula), Crosta (Crosta de Lesão); Sangue Total; Urina; e Secreção Naso/Orofaringe, respeitando os cuidados relacionados a biossegurança, com utilização de todos os EPIs (Gorro, Mascara, Óculos, Avental e Luvas).

Para solicitar os exames relacionados pelo diagnóstico diferencial no Sistema GAL, faz-se necessário preenchimento das variáveis obrigatórias e mais:

-**Finalidade:** Investigação

-**Descrição:** Monkeypox Vírus

-**Agravo/Doença:** Varíola

-**Data 1º sintomas:** (data do início dos sintomas)

-**Nova Amostra:** Sangue Total **OU** Secreção Naso/orofaringe **OU** Urina **OU** Secreção **OU** Fragmento

-**Nova Pesquisa:** Monkeypox Vírus - Crosta de Lesão **OU** Monkeypox Vírus - Sangue Total **OU** Monkeypox vírus - Secreção de Vesícula **OU** Monkeypox vírus - Secreção Naso/Orofaringe **OU** Monkeypox vírus - Urina

\*Lembrar de vincular o tipo da "**Nova Amostra**" com o tipo da "**Nova Pesquisa**".

### Monkeypox Virus - Crosta de Lesão

Exame	Metodologia	Material
Varíola	Isolamento Viral	Crosta de Lesão
Varicela Zoster, Biologia Molecular	PCR em Tempo Real	Crosta de Lesão

### Monkeypox Virus - Sangue Total

Exame	Metodologia	Material
Pesquisa de Arbovírus (ZDC)	RT-PCR em tempo real	Sangue Total
Herpes Simplex 1 e 2 - Biologia Molecular	PCR duplex em tempo real	Sangue Total
Sífilis, Teste Rápido	Imunocromatografia	Sangue Total

### Monkeypox virus - Secreção de Vesícula

Exame	Metodologia	Material
Varíola	Isolamento Viral	Secreção de Vesícula
Varicela Zoster, Biologia Molecular	PCR em Tempo Real	Secreção de Vesícula
Bactérias, Cultura	Cultura	Secreção de Vesícula

### Monkeypox virus - Secreção Naso/Orofaringe

Exame	Metodologia	Material
Varicela Zoster, Biologia Molecular	PCR em Tempo Real	Secreção Naso/Orofaringe
Sarampo, Biologia Molecular	RT-PCR em tempo real	Secreção Naso/Orofaringe

### Monkeypox virus - Urina

Exame	Metodologia	Material
Pesquisa de Abovírus (ZDC)	RT-PCR em tempo real	Urina
Bactéria, Cultura	Urocultura	Urina
Sarampo, Biologia Molecular	RT-PCR em tempo real	Urina

  
Walterlene de Carvalho Gonçalves  
Diretora do LACEN-PI