



GOVERNO DO ESTADO DO PIAUÍ
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA
DR. COSTA ALVARENGA



NOTA TÉCNICA 01/2024

Teresina, 22 de Fevereiro de 2024.

ASSUNTO: DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES (ZYCA, DENGUE E CHIKUNGUNYA)

PARA: HOSPITAIS REGIONAIS/SECRETARIAS MUNICIPAIS DE SAÚDE

INTRODUÇÃO

Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) são arboviroses de grande importância que afetam o ser humano e constituem sério problema de saúde pública no mundo, sendo transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti* e tendo seu controle principal baseado nas medidas de combate ao mosquito transmissor.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial das arboviroses causadas pelos vírus DENV, CHIKV e ZIKV depende da associação de uma série de análises por diferentes métodos diagnósticos realizados pelo LACEN/PI, a saber:

- **Diagnóstico sorológico:** detecção de antígeno NS1* por ELISA (DENV), detecção de anticorpos da classe IgM por ELISA (DENV, CHIKV e ZIKV) e detecção de anticorpos da classe IgG por ELISA (CHIKV e ZIKV).
- **Diagnóstico molecular e sorotipagem:** detecção de RNA viral por Técnica ZDC RT-PCR (ZIKV, DENV e CHIKV) com caracterização dos sorotipos de dengue: DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4.

Desta forma, as amostras coletadas dependem da informação via **ficha de notificação e GAL da data de início dos sintomas e data de coleta do material** para adequado processamento dos testes laboratoriais a serem executados no LACEN/PI.

Devido à necessidade de otimização da rotina laboratorial, complexidade inerente aos métodos executados e prevenção de perda de insumos, cada exame possui um prazo próprio para execução e liberação de resultados que varia de **05 a 10 dias úteis**, dependendo do exame considerado (**ver TABELA 1**).

***é considerado um método direto mesmo estando no grupo das sorologias.**

Tabela 1. Prazos para execução e liberação de resultados de exames executados pelo LACEN-PI

| EXAMES | PRAZO DE LIBERAÇÃO * |
|--------------------------------------|-----------------------------|
| DENV NS1 (ELISA) | 05 dias úteis |
| DENV, CHIKV e ZIKV IgM e IgG (ELISA) | 05 dias úteis |
| DENV Molecular (ZDC - RT-PCR) | Até 10 dias úteis |
| ZIKV Molecular (ZDC - RT-PCR) | Até 10 dias úteis |
| CHIKV Molecular (ZDC - RT-PCR) | Até 10 dias úteis |

***Prazos dependentes do fornecimento de kits pelo Ministério da Saúde.**

Além dos exames realizados pelo LACEN-PI, algumas metodologias podem ser realizadas nos laboratórios de referência como a Histopatologia e a imunohistoquímica de tecidos, bem como isolamento viral, também de fragmentos de tecidos.

O correto diagnóstico das arboviroses citadas é diretamente dependente da escolha do teste laboratorial apropriado ao momento da doença que o paciente se encontra, uma vez que cada método citado possui uma janela de detecção própria (**ver Anexo I**). Portanto, orienta-se que as **unidades de saúde responsáveis pela coleta do material clínico e inserção no sistema GAL** atentem para o correto cadastro do exame que deve ser feito tendo por base o **período transcorrido do início dos sintomas até a coleta da amostra**, de maneira que a chance de diagnóstico do paciente seja maior e que não haja gasto desnecessário de insumos laboratoriais. **Dessa forma, é obrigatório informar a data de início dos sintomas e de coleta da amostra, muito importante que a ficha de notificação tenha todos campos preenchidos para evitar rejeição da amostra.**

As amostras para diagnóstico das arboviroses devem coletadas no primeiro contato do paciente com a unidade de saúde, desde que atenda alguma das definições de casos suspeitos dessas arboviroses conforme orienta a Nota Informativa Nº 30/2023-CGAR/B/DEDT/SVSA/MS.

Pacientes com suspeita de infecção por CHIKV ou ZIKV cujo momento de coleta da amostra de soro seja **exatamente de 15 dias** após o início dos sintomas devem ser submetidos tanto a pesquisa de IgM como de IgG e cadastrados no sistema GAL, devido ao momento da doença poder coincidir com o *switch* de classe de anticorpos.

De acordo com a **Nota Técnica Nº. 427/2021-CGLAB/DAEVS/SVS/MS**, os exames de biologia molecular são importantes para que se conheça o sorotipo do vírus dengue (DENV) em circulação no território, assim como reconhecer a circulação dos vírus Zika (ZIKV), Chikungunya (CHIKV), Febre Amarela (YFV) e, mais

recentemente, vírus do Nilo Ocidental (WNV). Também servem de base para estudos que apoiam os modelos de previsão e dispersão destas doenças, oferecendo importante subsídio para as ações de intensificação da vigilância, prevenção e controle vetorial além das demais tomadas de decisão.

CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- Amostras de soro que apresentam hemólise, coágulos e resíduos de fibrina afetam a viabilidade do diagnóstico, devendo ser evitados no momento da coleta;
- Amostras enviadas sem fichas de notificação ou sem cadastro no GAL não serão processadas, bem como amostras que forem enviadas fora da temperatura adequada de transporte (4 a 8°C). Em ambos os casos haverá descarte físico e no sistema GAL com descrição da não-conformidade ocorrida;
- Amostras que estiverem fora da janela de detecção dos testes solicitados serão direcionadas ao método de diagnóstico adequado à janela de detecção informada nas fichas de notificação e GAL.

CRITÉRIOS PARA EXECUÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS

Devido à limitação de insumos fornecidos pelo Ministério da Saúde e de capacidade técnica oferecida pelo LACEN/PI, desde a implantação dos testes moleculares para diagnóstico de arboviroses, são observados pela equipe os critérios clínico-epidemiológicos e laboratoriais, embasados nas informações contidas na literatura científica sobre o tema, para execução de exames diagnósticos e otimização da identificação de casos positivos para DENV, CHIKV e ZIKV no âmbito estadual. Dessa forma, para execução de cada exame, a amostra biológica devidamente coletada e acondicionada deve atender aos seguintes critérios na (**ANEXO I**).

À disposição para maiores esclarecimentos,



Dr. Fabrício Pires de Moura do Amaral

Diretor LACEN-PI

Fabrício P. de M. do Amaral
Farmacêutico
Diretor do LACEN-PI
CRF-531/PI

ANEXO I

Orientações para coleta, armazenamento, conservação e transporte das amostras biológicas de **HUMANOS** para o diagnóstico laboratorial de arboviroses.

| Tipo de Diagnóstico | Amostra Clínica | Procedimento de Coleta | Armazenamento e Conservação | Acondicionamento e Transporte |
|--|---|---|---|---|
| Sorologias (métodos indiretos): (IgM/IgG e NS1*) | Soro, Líquido Cefalorraquidiano (LCR) | <ul style="list-style-type: none"> Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante a partir do 6º dia do início dos. Para Dengue NS1, a amostra deverá ser coletada até o 5º dia após o início dos sintomas. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR Em caso de óbito realizar punção intracardiaca. | Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após estes períodos, manter a -70 °C. | |
| Diagnóstico Molecular e Isolamento Viral (métodos diretos): (RT-qPCR); Sequenciamento Genético; | Sangue, Soro/Plasma, Líquido Cefalorraquidiano (LCR); Urina; Sêmen; Tecido/Fragmentos de Visceras (fígado, rim, coração, pulmão, baço, linfonodo, cérebro, músculo esquelético) | <ul style="list-style-type: none"> Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, para obtenção do soro sendo a coleta realizada até o 5º dia a partir do início dos sintomas (casos suspeitos de infecção pelo vírus da Febre Amarela, considerar até o 10º dia). Para suspeita de chikungunya coletar até o 8º dia de sintomas. Para urina e sêmen, coletar 10mL até 15 dias após o início dos sintomas. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR, até 15 dias após o início dos sintomas. Para investigação de óbitos, coletar 2cm³ de fragmentos de vísceras à fresco, logo após o óbito (no máximo 24 horas) | Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após este período, manter a -70 °C. Obs.: No caso de fragmento de vísceras, não utilizar Formalina tamponada 10%. | Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável. |
| Histopatologia e imunohistoquímica | Tecidos | <ul style="list-style-type: none"> Coletar fragmento de 1 cm de fígado, rim, coração, baço, linfonodos, logo após o óbito (no máximo até 12 horas) Obtenção da amostra necropsia ou punção | Utilizar frasco plástico estéril com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em temperatura ambiente em formalina tamponada | Temperatura ambiente |

*NS1 é considerado método direto, mesmo estando no grupo das sorologias.