

## NOTA TÉCNICA N°001/2015 - LACEN

### **Ementa: Orientações para solicitação e envio de amostras coletadas para o diagnóstico laboratorial de dengue e outras Doenças Exantemáticas.**

Atualmente, o Ministério da Saúde adotou a nova classificação da OMS, que define a dengue como:

- **Dengue:** paciente que apresente febre com dois ou mais dos seguintes sintomas: náuseas, vômitos, exantema, mialgia, artralgia, cefaleia, dor retroorbital, petéquias. Nesses casos, o paciente deverá procurar atendimento em uma Unidade Básica de Saúde;
- **Dengue com sinais de alarme:** é todo caso de dengue que apresenta um ou mais dos seguintes sinais de alarme: dor abdominal intensa e contínua, dor a palpação do abdômen, vômitos persistentes, sangramento de mucosas, letargia, irritabilidade, tontura.
- **Dengue grave:** caso de dengue que apresenta um ou mais dos seguintes resultados: sangramento grave, choque.

**Visando orientar as Regionais de Saúde, Municípios, Unidades de Saúde e outros locais que enviam materiais para o LACEN/PI, e tendo em vista o seu papel como laboratório de Referência em Saúde Pública segue as informações e os procedimentos**

### **Orientações para procedimentos laboratoriais**

A comprovação laboratorial das infecções pelo vírus da dengue (DENV) pode ser feita por meio de isolamento viral, detecção de genoma viral (RT-PCR), detecção da proteína NS1 do vírus, pesquisa de anticorpos (sorologia) ou por estudo histopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imunohistoquímica.

- **Isolamento viral**

É o método mais específico (padrão ouro) e permite a identificação do sorotipo do vírus (DENV) responsável pela infecção. Pode ser realizado em amostras de sangue, líquido céfalo-raquidiano (LCR) e fragmentos de vísceras (fígado, baço, coração, pulmão, rim e cérebro).

A amostra de sangue deve ser coletada na 1ª semana da doença, durante o período de viremia, preferencialmente até o 4º dia do início dos sintomas.

- **Detecção do genoma viral pelo método da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)**

Não é utilizada na rotina diagnóstica, contudo tem importância para o diagnóstico dos casos em que as técnicas de rotina foram insuficientes para a definição diagnóstica, especialmente nos casos que evoluíram a óbito. O método pode ser realizado em amostras de sangue, soro, líquido céfalo-raquidiano (LCR), fragmentos de vísceras (fígado, baço, linfonodos, coração, pulmão, rim e cérebro) e ainda em lotes de mosquitos vetores

- **Detecção da proteína NS1 do vírus (antígeno)**

O NS1 é um importante marcador de viremia e está presente no soro de pacientes infectados com o vírus da dengue durante a fase clínica inicial da doença. Este teste apresenta alta sensibilidade (variável de acordo com o sorotipo) durante os primeiros dias da febre, sendo encontrado tanto na infecção primária quanto na secundária.

- **Pesquisa de anticorpos (sorologia) –**

É o método de escolha para a confirmação laboratorial na rotina. Existem várias técnicas, sendo a captura de IgM por ELISA (MAC ELISA) o método de escolha, pois detecta infecções atuais ou recentes. Baseia-se na detecção de anticorpos IgM para o DENV. A coleta da amostra deverá ser coletada a partir do 6º dia do início dos sintomas sendo a coleta ideal no 14º dia.

- **Diagnóstico histopatológico seguido de pesquisa de antígenos virais por imunohistoquímica**

Realizado em material obtido após a morte do paciente. As lesões anatomopatológicas podem ser encontradas no fígado, baço, coração, linfonodos, rins e cérebro.

### **Técnica de Coleta**

O sangue deve ser colhido de forma asséptica em tubo vacutainer com gel separador, de capacidade para 4 ml.

- Na falta de tubo vacutainer colher o sangue com seringa de 10 ml e agulha descartáveis, em tubos **sem anticoagulante**, e após 30 minutos centrifugar. Em seguida transferir o soro (sobrenadante) para um tubo de vidro esterilizado.

### **Tipo de material utilizado e quantidade**

- Soro Sanguíneo (1 a 2 ml)

### **Separação do Soro**

- Em serviço que dispõe de centrífuga fazer a centrifugação por 15 minutos a 1500rpm. Transferir o soro para o tubo de vidro esterilizado. Fechar bem com tampa de borracha. Identificar o frasco com o nome do paciente data de coleta e exame solicitado.
- Em serviço que não dispões de centrífuga, após a coleta deixar o tubo com sangue em repouso por 1 a 2 horas, ou tempo necessário para a retração do coágulo. Retire em seguida o soro (sobrenadante). Transferir o soro para o tubo de vidro esterilizado. Fechar bem com tampa de borracha. Identificar o frasco com o nome do paciente data de coleta e exame solicitado.

### **Conservação da Amostra**

- **Isolamento Viral/ RT-PCR** - Após a centrifugação e separação do soro, manter o soro refrigerado a -70°C, ou 2 a 8°C por no máximo 8 horas – Enviar imediatamente ao LACEN.
- **Sorologia** - Após a centrifugação e separação do soro, conservar em refrigeração 2 a 8°C e enviar o mais rápido possível para o LACEN.

### **Envio da Amostra**

\*A amostra deve ser acondicionada em estante para tubos, dentro de uma caixa térmica com gelo reciclável.

Encaminhar com a **ficha epidemiológica** completamente preenchida (obrigatória) e a ficha de encaminhamento da amostra (requisição do exame) quando necessário.

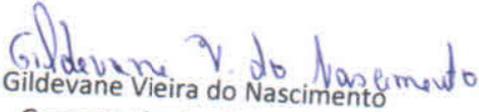
**Cadastro da amostra**

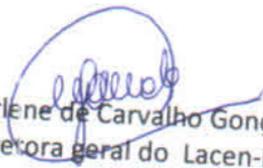
- Deverá ser feito o cadastramento no gerenciamento de ambiente laboratorial (GAL) disponível no site do LACEN: [www.lacen.pi.gov.br](http://www.lacen.pi.gov.br) e enviada ao laboratório acompanhado de relatório em 02(duas) vias.

Dúvidas e esclarecimentos contatar  
Email: [getec@lacen.pi.gov.br](mailto:getec@lacen.pi.gov.br)  
Fones: 86 – 3221-3551

Atenciosamente,

Teresina, 05/05/2015

  
Gildevane Vieira do Nascimento  
Gerente técnica do LACEN-PI

  
Walterlene de Carvalho Gonçalves  
Diretora geral do LACEN-PI