

## NOTA TÉCNICA N°001/2017 - LACEN

**Ementa:** *Orientações para solicitação e envio de amostras coletadas para o diagnóstico laboratorial de arbovírus.*

Arbovírus é a designação para os vírus que são transmitidos e mantidos em natureza em ciclos envolvendo vetores artrópodes hematófagos e hospedeiros vertebrados. São frequentemente apresentados na forma epidemia e são semelhantes uns aos outros na sua expressão clínica; são uma doença febril pode (como no caso de Dengue e Chikungunya) ou exantemática (Zika). Outros sintomas comuns são dor de cabeça e dor no corpo, incluindo mialgia e articulares manifestações. Este último pode ser apenas artralgia (como no caso da dengue), artrite (Chikungunya) ou ambos (Zika). Também pode ocorrer edema extremidades (Chikungunya e Zika) e conjuntivite não purulenta (Zika). Podem ainda apresentar-se assintomática, oligossintomática, moderada, grave e maligna. A febre amarela se insere nesse grupo e apresenta-se em sua forma clássica com febre hemorrágica de elevada letalidade, constitui a febre hemorrágica viral original, a primeira descrita no mundo, a que mais temor provoca na sociedade moderna.

### Orientações para procedimentos laboratoriais – Pesquisas/metodologias realizadas LACEN-PI.

#### 1. Dengue:

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

O diagnóstico molecular da dengue é necessário para a identificação dos sorotipos virais circulantes e detecção precoce do surgimento de um novo sorotípo, contribuindo para o sistema de vigilância epidemiológica da doença. Realizada durante o período de viremia da doença, que inicia durante o período febril. A amostra deve ser coletada preferencialmente durante os cinco primeiros dias de sintomas, sendo até o 7º dia possível de realização do teste em casos excepcionais. Conduzir ao LACEN-PI o mais rápido possível (caso, não seja possível o envio imediato, acondicionar em geladeira 2°C a 8°C por 24h).

- **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 sorotípo) durante os primeiros dias da febre. Exames negativos não descartam a doença, devendo ser coletar 2ª amostra para realização de sorologia. Conduzir ao LACEN-PI o mais rápido possível (caso, não seja possível o envio imediato, acondicionar em geladeira 2°C a 8°C por 24h).

- **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 (enzimaimunoensaio) 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. A amostra poderá permanecer em geladeira (2°C a 8°C) por 48h.

## 2. Chikungunya:

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

O método pode ser realizado em amostras de sangue, soro, líquido céfalo-raquidiano (LCR), coletar amostra na fase aguda da doença (1º ao 8º dia de aparecimento de sintomas). Conduzir ao LACEN-PI o mais rápido possível (caso, não seja possível o envio imediato, acondicionar em geladeira 2°C a 8°C por 24h).

ecomendamos não ultrapassar 24 horas).

- **Pesquisa de anticorpos (sorologia - IgM e IgG)**

É o método de escolha para a confirmação laboratorial na rotina. Fase aguda: preferencialmente nos primeiros dias de doença. Fase convalescente: preferencialmente entre 15 e 45 dias após início dos sintomas. A amostra poderá permanecer em geladeira (2°C a 8°C) por 48h.

## 3. Zika:

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

O método pode ser realizado em amostras de sangue, soro, líquido céfalo-raquidiano (LCR), coletar amostra na fase aguda da doença (1º ao 5º dia de aparecimento de sintomas). Para gestantes a amostra urina deve ser coletada entre 5º e 8º dias de aparecimento de sintomas. Conduzir ao LACEN-PI o mais rápido possível (caso, não seja possível o envio imediato, acondicionar em geladeira 2°C a 8°C por 24h).

- **Teste Rápido Zika IgM/IgG**

É um teste de triagem, sendo realizado para investigar a condição imunológica de grupos prioritários, ou casos em que o profissional de saúde julgar necessários (ver Nota Informativa Conjunta nº 04 de 2017/SAS/SVS/MS). O resultado reagente não é suficiente para o fechamento do caso, sendo necessária a confirmação por sorologia IgM ou IgG. A amostra poderá permanecer em geladeira (2°C a 8°C) por 48h.

## 4. Febre Amarela:

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

Detecção de genoma do vírus pela técnica da transcrição reversa, com reação em cadeia da polimerase (RT-PCR), em amostras de sangue ou de tecidos, conservadas em baixas temperaturas. Conduzir ao LACEN-PI o mais rápido possível (caso, não seja possível o envio imediato, acondicionar em geladeira 2°C a 8°C por 24h).

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

A sorologia pode sugerir febre amarela quando realizada pelo método de captura de IgM, (enzimaimunoensaio) e requer avaliação dos dados clínicos e epidemiológicos, considerando reações cruzadas e inespecíficas. A amostra poderá permanecer em geladeira (2°C a 8°C) por 48h.

**Diagnóstico histopatológico seguido de pesquisa de抗ígenos virais por imunohistoquímica**  
realizado em material obtido após a morte do paciente. As lesões anatomo-patológicas podem ser encontradas no fígado, baço, coração, linfonodos, rins e cérebro. Coleta de tecidos deve ser realizada em no máximo 24 horas após o óbito para isolamento viral ou histopatologia e imunohistoquímica.

#### Orientações para procedimentos laboratoriais – Consulta Rápida

Agravos	Metodologias/Pesquisa	Período coleta
Dengue	Sorologia para Dengue NS1	1º ao 5º dia de aparecimento de sintomas, preferencialmente 3º dia;
	Dengue RT-PCR	1º ao 5º dia de aparecimento de sintomas;
	Sorologia para Dengue	A partir do 6º dia de aparecimento dos sintomas
Chikungunya	Chikungunya RT-PCR	1º ao 8º dia de aparecimento de sintomas, preferencialmente 5º dia;
	Sorologia para Chikungunya	A partir do 4º dia de aparecimento de sintomas (fase aguda) e 15 e 45 dias após o aparecimento dos sintomas (fase convalescente);
Zika	Zika PCR (amostra soro)	1º ao 5º dia de aparecimento de sintomas, preferencialmente 3º dia;
	Zika PCR (*gestantes: amostra urina)	Até 14º dia após aparecimento de sintomas;
	Teste Rápido Zika IgM/IgG	A partir do 7º ao 16º dia de aparecimento dos sintomas;
Febre Amarela	Sorologia para Febre Amarela	A partir do 6º dia de aparecimento dos sintomas;
	Febre Amarela RT-PCR	1º ao 5º dia de aparecimento de sintomas;

#### Orientações para procedimentos laboratoriais – 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 centrifuga fazer a centrifugação por 15 minutos a 1.000 rpm. 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 dispõe de centrifuga, 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.

Atenciosamente,

Teresina, 23/05/2017

*Gildevane V. Nascimento*  
Gildevane Vieira do Nascimento  
Gerente técnica do LACEN-PI

Gildevane Vieira do Nascimento  
Gerente Técnica do LACEN-PI  
Mat. 168502-3

*Walterlêne de Carvalho Gonçalves*  
Walterlêne de Carvalho Gonçalves  
Diretora Geral do LACEN-PI  
*Walterlêne de Carvalho Gonçalves*  
Farmacêutica - Bioquímica  
Diretora do LACEN-PI  
CRF-497/PI

OBS. Email: [getec@lacen.pi.gov.br](mailto:getec@lacen.pi.gov.br)  
[patologia@lacen.pi.gov.br](mailto:patologia@lacen.pi.gov.br) (Telefone - 86-3221-3551)