



SECRETARIA
DE ESTADO DA SAÚDE



LACEN

Laboratório Central de Saúde Pública-GO

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS

**MANUAL PARA O DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES
NO ESTADO DE GOIÁS**

1ª VERSÃO - 2017



LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS

**MANUAL PARA O DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES
NO ESTADO DE GOIÁS.**

Goiânia, 2017

1ª Versão

LABORATÓRIO DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS

EQUIPE RESPONSÁVEL PELA ELABORAÇÃO

CARMEN HELENA RAMOS
Coordenação da Área de Biologia Médica

VINICIUS LEMES DA SILVA
Coordenação da Rede de Laboratórios

YULLA FERNANDES PASSOS CHAVES
Seção de Virologia

MÁRCIA TOMAZ FREIRE
Bancada de Sorologia das Arboviroses/Virologia

LUCILEIS DE FÁTIMA FERNANDES DA SILVA
Bancada de Isolamento Viral/Virologia

ANGELA FERREIRA LOPES DE TEIVE E ARGOLO
Bancada de Soroneutralização/Virologia

MARIA JOSÉ DA CUNHA
Seção de Biologia Molecular

LUIZ AUGUSTO PEREIRA
Bancada de RT-qPCR/Biologia Molecular

1ª versão - Abril de 2017– revisores:

Angela Ferreira Lopes de Teive e Argolo

Lucileis de Fátima Fernandes da Silva

Luiz Augusto Pereira

Márcia Tomaz Freire

Maria José da Cunha

Vinícius Lemes da Silva

Yulla Fernandes dos Passos Chaves

Aprovação:

Carmen Helena Ramos

Sumário

INTRODUÇÃO	6
1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES NO LACEN/GO.....	6
Sessão A	7
DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E ISOLAMENTO VIRAL	7
2. DENGUE.....	8
2.1) Pesquisa de anticorpos IgM para dengue	9
2.2) Pesquisa do Antígeno NS1 (NS1Ag) para dengue.....	12
2.3) Teste de Isolamento Viral para dengue	15
3. ZIKA.....	19
4. FEBRE AMARELA	21
5. CHIKUNGUNYA	24
6. MAYARO	27
Sessão B	29
DIAGNÓSTICO POR BIOLOGIA MOLECULAR / RT-PCR EM TEMPO REAL	29
7. DENGUE.....	30
8. ZIKA.....	34
9. FEBRE AMARELA	36
10. CHIKUNGUNYA	38
11. MAYARO	40
Sessão C	42
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS	42
12. Instruções para a coleta de amostras em situação de óbito.....	43
Sessão D	46
BOTIJÃO DE NITROGÊNIO	46
13. Manuseio do botijão de nitrogênio	47
Sessão E	50
FLUXO DE RESULTADOS	50
14. FLUXO DE RESULTADOS.....	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	53
ANEXO A: FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DIAGNÓSTICO DE DENGUE – SOROLOGIA IgM	54
ANEXO B: FICHA DE ENCAMINHAMENTO PARA REALIZAÇÃO DE EXAME CONFIRMATÓRIO	55

ANEXO C: FLUXO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES- LACEN/GO (testes realizados no período de viremia: Isolamento Viral, NS1Ag e RT-PCR).....	56
ANEXO D: FLUXO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES- LACEN/GO (testes sorológicos: NS1Ag, IgM e IgG).....	57
ANEXO E: FLUXO DE INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS - LACEN/GO	58

INTRODUÇÃO

1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES NO LACEN/GO

O Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros (Lacen/GO) realiza exames para o diagnóstico laboratorial das arboviroses: dengue, zika, febre amarela, chikungunya e mayaro, através da detecção dos vírus e/ou de seus componentes (ex. genoma viral e antígenos) e ainda, através da pesquisa de anticorpos específicos para os referidos agravos. As metodologias utilizadas são:

- Enzimaimunoensaio (ELISA);
- Isolamento viral;
- RT-PCR

Para cada agravo investigado, diferentes métodos são utilizados, dentre estes métodos estão as técnicas de detecção de IgM (Dengue, Febre Amarela, Zika, Chikungunya e Mayaro), detecção de antígeno NS1 (Dengue), Isolamento Viral (Dengue e Febre Amarela) e detecção de genoma viral por RT-PCR em tempo real (Dengue, Febre Amarela, Zika, Chikungunya e Mayaro).

O Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) é o sistema informatizado utilizado em todos os procedimentos relacionados ao diagnóstico laboratorial, desde o cadastro, que deve ser realizado pela unidade solicitante, até os resultados que são disponibilizados pelo Lacen/GO. O GAL está implantado em todos os municípios do Estado e em todas as Regiões de Saúdes que dão suporte técnico aos municípios, garantindo assim, que os solicitantes tenham acesso aos resultados laboratoriais de forma oportuna.

Em caso de óbito, o teste anatomopatológico (imunohistoquímica e histopatológico) é realizado no Laboratório de Referência Nacional de Arbovírus – Instituto Evandro Chagas (IEC). Os resultados do IEC são monitorados pela seção do Núcleo de Vigilância Laboratorial do Lacen/GO, que por sua vez encaminha os resultados para a Vigilância Epidemiológica Estadual (SUVISA), que os distribui aos municípios solicitantes, com exceção de Goiânia que é entregue via malote pelo Lacen-GO.

SESSÃO A
DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO E
ISOLAMENTO VIRAL

2. DENGUE

Dengue é uma doença de importância em saúde pública no Brasil. Desde 2014, o Ministério da Saúde, adota a seguinte classificação de casos: dengue, dengue com sinais de alarme e dengue grave, segundo as definições:

Caso suspeito de dengue: pessoa que viva ou tenha viajado nos últimos 14 dias para área onde esteja ocorrendo transmissão de dengue ou que tenha a presença de *Ae. aegypti*, que apresente febre (usualmente entre 2 e 7 dias), além de apresentar duas ou mais das seguintes manifestações: náuseas, vômitos, exantema, mialgia, artralgia, cefaleia, dor retro orbital, petéquias ou prova do laço positiva e leucopenia. Considera-se também como caso suspeito toda criança proveniente ou residente em área com transmissão de dengue, com quadro febril agudo, usualmente entre 2 a 7 dias, e sem foco de infecção aparente.

Caso suspeito de dengue com sinais de alarme: todo caso de dengue que, no período de efervescência da febre apresentar um ou mais dos seguintes sinais de alarme: dor abdominal intensa e contínua ou dor a palpação do abdômen, vômitos persistentes, acumulação de líquidos (ascites, derrame pleural, pericárdico), sangramento de mucosas, letargia ou irritabilidade, hipotensão postural (lipotímia), hepatomegalia maior que dois centímetros e aumento progressivo do hematócrito.

Caso suspeito de dengue grave: todo caso de dengue que apresenta um ou mais dos seguintes resultados abaixo:

- Choque devido ao extravasamento grave de plasma evidenciado por taquicardia, extremidades frias e tempo de enchimento capilar igual ou maior a três segundos, pulso débil ou indetectável, pressão diferencial convergente menor ou igual a 20mmHg, hipotensão arterial em fase tardia, acumulação de líquidos com insuficiência respiratória;
- Sangramento grave, segundo avaliação do médico (exemplos: hematêmese, melena, metrorragia volumosa, sangramento do sistema nervoso central);

- Comprometimento grave de órgãos tais como: dano hepático importante (AST o ALT >1000), sistema nervoso central (alteração da consciência), coração (miocardite) ou outros órgãos.

Testes laboratoriais podem ser realizados para diagnóstico dos casos de dengue. O Lacen/GO realiza os seguintes exames:

2.1) Pesquisa de anticorpos IgM para dengue

2.1.1) Quando realizar a sorologia IgM?

Durante o período epidêmico da dengue, deve-se realizar a pesquisa de anticorpos IgM nas seguintes situações:

- a) **Casos suspeitos de dengue** – recomenda-se coleta de forma amostral (um a cada 10 casos).
- b) **Casos suspeitos de dengue com sinais de alarme** – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.
- c) **Casos suspeitos de dengue grave e óbitos por dengue** – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.

Em períodos não epidêmicos a coleta deve seguir os seguintes critérios:

- a) **Casos suspeitos de dengue** – recomenda-se coleta de amostra de 100% dos casos.
- b) **Casos suspeitos de dengue com sinais de alarme** – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.
- c) **Casos suspeitos de dengue grave e óbitos por dengue** – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.

As amostras coletadas para a pesquisa de anticorpos IgM devem ser encaminhadas para os laboratórios descentralizados que atendem à demanda da Região de Saúde de sua abrangência. Nas Regiões onde este fluxo de encaminhamento e a realização de exames sorológicos não estão consolidados, ou quando a demanda for maior que a capacidade de execução destes laboratórios, as amostras podem ser encaminhadas para o Lacen/GO.

2.1.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para pesquisa de IgM para dengue

Colher assepticamente 10 ml de sangue preferencialmente entre o 5° e o 60° dia após o início dos sintomas (casos excepcionais, de investigação tardia, poderão ser coletados em até 90 dias), utilizar seringa ou tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificado. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos em temperatura ambiente. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro. Transferir o soro assepticamente para tubo plástico, estéril, com **tampa de rosca**, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Não se recomenda a utilização de amostras de soro que apresentam contaminação microbiana, hemólise ou lipemia.

Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar imediatamente as amostras ao Laboratório Regional, quando descentralizado, ou ao Lacen/GO (não estocar amostras).

Colocar a amostra de soro em saco plástico individualizado e transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível e ficha de cadastro no GAL.

ATENÇÃO: O rótulo deve conter de forma legível o nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, tipo de amostra e número da amostra (se 1ª ou 2ª amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação.

Quadro 1. Amostras para Pesquisa de anticorpos IgM para dengue

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
IgM Dengue	Soro ou líquido A partir do 5° até 60° dia de sintomas (preferência entre o 7° e 45° dia)	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor	AQDD^a ou Confirmatório (indeterminados) Soro 1: a partir do 5° dia de sintomas Soro2: 15 dias após a coleta da primeira amostra.

^aAQDD: Avaliação da Qualidade do Diagnóstico em Dengue

2.1.3 Avaliação da Qualidade do Diagnóstico em Dengue (AQDD) – Sorologia IgM

Com a descentralização do diagnóstico sorológico para Pesquisa de anticorpos IgM para dengue, tornou-se necessário avaliar a qualidade do diagnóstico realizado pelos laboratórios municipais que compõem a rede laboratorial (REDELAB) e recebem insumos do Ministério da Saúde para este fim.

Conforme Nota Técnica nº 41/03 e acordo firmado com a Superintendência de Vigilância em Saúde (SUVISA), o quantitativo de amostras que deverão ser enviadas ao Lacen/GO para “Avaliação da Qualidade do Diagnóstico em Dengue (AQDD)” deverá ser:

- a) **Período Epidêmico:** enviar 3% das amostras testadas (2% das amostras negativas e 1% das amostras positivas).
- b) **Período Interepidêmico:** enviar 10% das amostras testadas (7% das amostras negativas e 3% das amostras positivas).

As amostras destinadas a “AQDD” deverão ser armazenadas a -20°C (freezer), transportadas com gelo reciclável em caixa térmica e enviadas juntamente com o formulário próprio, completamente e corretamente preenchido (ANEXO A), **pelo menos a cada dois meses**. Enviar uma alíquota ao Lacen/GO e estocar outra alíquota para contraprova no laboratório de origem, quando esta se fizer necessária.

As amostras serão retestadas com o mesmo *kit* utilizado no laboratório solicitante assim como pela técnica “MAC-ELISA In House” considerada padrão-ouro. Será avaliada a concordância entre os resultados obtidos no laboratório solicitante e os resultados do Lacen/GO. O relatório da avaliação final será repassado ao laboratório solicitante via ofício.

Esta avaliação serve como parâmetro para determinar a qualidade do *kit* e dos procedimentos técnicos empregados em sua utilização, a citar:

- Quando comparamos os resultados com o mesmo kit utilizado no município, pretendemos avaliar os procedimentos técnicos empregados na reação sorológica;

- Quando comparamos os resultados com a técnica padrão ouro para a sorologia da dengue, pretendemos avaliar a qualidade do Kit comercial distribuído aos municípios pelo Ministério da Saúde.

A partir destas avaliações será possível estabelecer critérios para atualizações técnicas e capacitações dos profissionais que realizam testes laboratoriais, além de subsidiar o Ministério da Saúde com dados sobre a qualidade dos kits utilizados.

2.1.4) Encaminhamento de amostras para exame confirmatório

As amostras que apresentarem resultados inconclusivos ou indeterminados, devem ser encaminhadas para realização de teste confirmatório no Lacen/GO, procedendo da seguinte forma:

- a) As amostras deverão ser **retestadas antes** de encaminhá-las ao Lacen/GO;
- b) Solicitar coleta de nova amostra, em até 15 dias após a primeira coleta (dentro do intervalo de 5 a 60 dias de sintomas), e testá-la no laboratório municipal. Permanecendo o resultado inconclusivo, enviar 1ª e 2ª amostras de soro ao Lacen/GO;
- c) Amostras enviadas para exame confirmatório devem ser cadastradas no GAL e vir acompanhadas de “Ficha de encaminhamento para realização de exame confirmatório” (ANEXO B) e da ficha epidemiológica de investigação;
- d) Resultado do exame confirmatório será liberado pelo Lacen/GO no GAL.

2.2) Pesquisa do Antígeno NS1 (NS1Ag) para dengue

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 enzimaímunoensaios (ELISA). O

NS1Ag é um ótimo biomarcador sorológico para o diagnóstico de dengue e sua detecção confirma a infecção pelos DENV. Entretanto, testes negativos **não descartam** a infecção por dengue.

Desde 2009, a partir de um projeto em conjunto com o Ministério da Saúde, o Lacen/GO realiza ELISA para detecção de NS1Ag com o objetivo de diagnosticar precocemente os casos de dengue, assim como, aprimorar o monitoramento viral dos DENV em Goiás.

2.2.1) Quando realizar a sorologia para detecção do antígeno NS1?

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

Além de ser um teste diagnóstico utilizado na fase inicial da dengue, a detecção do antígeno NS1 tem sido empregada no Lacen-GO como teste de triagem para a técnica de isolamento viral.

As amostras coletadas para a pesquisa do NS1Ag devem ser encaminhadas para os laboratórios descentralizados que atendem à demanda da Região de Saúde de sua abrangência. Nas Regiões onde este fluxo de encaminhamento e a realização de exames sorológicos não estão consolidados, ou quando a demanda for maior que a capacidade de execução destes laboratórios, as amostras podem ser encaminhadas para o Lacen/GO.

2.2.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para o diagnóstico sorológico – NS1Ag

Coletar assepticamente 10 ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulantes, previamente identificado, em pacientes com até 5 dias do início dos sintomas, preferencialmente até o 3º dia. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro.

O acondicionamento e transporte das amostras devem ser realizados da seguinte forma (ANEXO C):

- a) **Quando for realizar apenas a detecção do antígeno NS1**, coletar somente amostra de soro que deve ser armazenada sob refrigeração entre 2° e 8°C por no máximo 7 dias, sendo que após este período a amostra deve ser obrigatoriamente armazenada a -20°C e transportada ainda congelada com gelo reciclável. Em até 07 dias a amostra deve ser encaminhada ao laboratório regional ou para o Lacen/GO para a realização oportuna da análise;
- b) **Quando for realizar a pesquisa do NS1Ag e isolamento viral em amostras de um mesmo paciente**, deve-se coletar 02 amostras: 01 amostra de soro para NS1Ag e 01 amostra de sangue total (**sem anticoagulante**) para o isolamento viral. As amostras deverão ser acondicionadas individualmente em tubos criogênicos (criotubos) com tampa de rosca, **fornecidos pelo Lacen-GO**, e devem ser devidamente identificados e armazenados em um mesmo saco plástico (um saco plástico para cada paciente). Estas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2° e 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o Lacen-GO imediatamente. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente** (ANEXO C).

As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica e ficha do GAL devidamente preenchidas e legíveis.

O rótulo de cada amostra deve conter nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, natureza da amostra e número da amostra (se 1ª ou 2ª amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação e legível.

Quadro 2. Amostras para Pesquisa de NS1Ag para dengue

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
NS1Ag Dengue	Soro Até 5º dia de sintomas (preferencialmente 3º dia)	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (refrigerar) por no máximo 7 dias , após esse período a amostra deve ser congelada Quando for NS1Ag e isolamento viral, enviar amostras de soro e sangue no botijão de nitrogênio	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor Botijão de Nitrogênio	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para a pesquisa do NS1Ag

2.3) Teste de Isolamento Viral para dengue

Desde 1998 o Lacen-GO realiza o monitoramento dos vírus dengue (DENV) através da técnica de isolamento viral em cultivo celular de linhagem C6/36 (células de mosquitos *Aedes albopictus*) e realiza a identificação dos sorotipos (DENV-1, 2, 3 e 4) por imunofluorescência indireta. O resultado é liberado em até 30 dias após o recebimento da amostra.

Além do monitoramento dos DENV circulantes em cada região de saúde de Goiás, este ensaio tem por objetivo detectar a introdução ou recirculação de um novo sorotipo viral. Essas informações são importantes para Vigilância Epidemiológica da dengue, alertando este sistema quanto às mudanças no perfil epidemiológico dos DENV no Estado.

Desta forma, distribuiu-se a capacidade instalada do Lacen/GO em cotas a serem utilizadas pelas Regiões de Saúde, tornando-se imprescindível uma boa seleção dos pacientes elegíveis para a realização deste exame.

Para as coletas de isolamento viral o município deverá solicitar previamente à Região de Saúde os criotubos para acondicionamento das amostras, determinar o

número de amostras coletadas e o fluxo de encaminhamento destas até o Lacen-GO, conforme as possibilidades de cada região.

2.3.1) Quando realizar o isolamento viral?

A amostra de sangue total deverá ser coletada até o 5º dia do início dos sintomas durante a fase de viremia da doença, que se inicia no período febril, dando-se preferência para coletas até o 3º dia de sintomas.

Um diagnóstico virológico de qualidade depende da coleta, acondicionamento e transporte adequados.

2.3.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para o isolamento viral

A coleta, acondicionamento e transporte das amostras devem ser realizados da seguinte forma (ANEXO C):

- a) **Isolamento viral com triagem pelo NS1** – Preferencialmente devem ser coletadas amostras para realização do isolamento viral e detecção do NS1Ag em conjunto, neste caso, coletar 02 amostras: 01 soro para NS1Ag (teste de triagem) e 01 amostra de sangue total (**sem anticoagulante**) para o isolamento viral. As amostras deverão ser acondicionadas individualmente em tubos criogênicos (criotubos) com tampa de rosca, **fornecidos pelo LACEN/GO**, e devem ser devidamente identificados e armazenados em um mesmo saco plástico, por paciente (um saco plástico para cada paciente). Estas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2° e 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o Lacen/GO. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente** (ANEXO C).
- b) **Isolamento viral sem triagem pelo NS1** – Em casos graves e óbitos, quando não for possível separar o soro para realizar a triagem pelo teste NS1Ag o sangue total (sem anticoagulante) deverá ser acondicionado individualmente

em tubos criogênicos (criotubos) com tampa de rosca, **fornecidos pelo Lacen-GO**, e devem ser devidamente identificados e armazenados em saco plástico individual, por paciente (um saco plástico para cada paciente). Estas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2° e 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o Lacen-GO. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente (ANEXO C).**

- c) **Isolamento viral em amostras de vísceras** – devem ser coletados 02 fragmentos de aproximadamente 1cm³ de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rins, baço, cérebro, pulmão, pâncreas e coração, em até no máximo 24h após o óbito, e acondicionadas individualmente em tubos criogênicos (criotubos), com tampa de rosca, **fornecidos pelo Lacen-GO**. Os tubos devem ser devidamente identificados e armazenados em um mesmo saco plástico (um saco plástico para cada paciente). Armazenar as amostras imediatamente em botijão com nitrogênio líquido.

Quadro 3. Amostras para Isolamento viral de dengue

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
Isolamento viral	Sangue total Até 5° dia de sintomas (preferencialment e 3° dia)	Botijão com nitrogênio líquido Alternativa: 2 a 8°C (refrigerar) por no máximo 48h, após esse período a amostra deve ser acondicionada no botijão com N2 NS1Ag + Isolamento viral: amostras de soro e sangue total devem vir no mesmo saco plástico no botijão com N2.	Preferencialmente em botijão com nitrogênio líquido ou Gelo reciclável em caixa de isopor em até 48h	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para o diagnóstico de Dengue por isolamento viral
Isolamento viral	Vísceras (1cm ³ de amostras in-natura acondicionadas em criotubos)	Botijão com nitrogênio líquido	Em botijão com nitrogênio líquido	

As amostras para isolamento viral poderão ficar refrigeradas entre 2° e 8°C por no máximo 48h, podendo ser encaminhadas ao Lacen/GO em caixas térmicas contendo gelo reciclável desde que não ultrapasse este tempo. É obrigatório registrar o horário e data de coleta da amostra. Para um período superior a 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.

2.3.2) Cotas mensais de envio de amostras para o isolamento viral de dengue

No intuito de realizar a vigilância virológica em Goiás, foram estabelecidas cotas mensais de coleta de amostras para o teste de isolamento viral, para cada Região de Saúde conforme tabela a seguir:

Tabela 1 – Cota mensal de coleta de amostra para teste de isolamento viral, por Região de Saúde em Goiás.

REGIÃO DE SAÚDE	NÚMERO DE AMOSTRAS/COTA MÊS
ARS São Patrício I	20
ARS São Patrício II	20
ARS Norte	20
ARS Serra da Mesa	20
ARS Pirineus	30
ARS Central	100
ARS Centro/Centro Sul	50
ARS Rio Vermelho	20
ARS Oeste I	20
ARS Oeste II	20
ARS Entorno Norte	20
ARS Nordeste I	15
ARS Nordeste II	15
ARS EntornoSul	50
ARS Sudoeste I	20
ARS Sudoeste II	20
ARS Estrada de Ferro	30
ARS Sul	30

O envio mensal de amostras para o teste de isolamento viral é obrigatório e o descumprimento pode acarretar em não recebimento de *kits* para detecção do NS1Ag para o período subsequente.

3. ZIKA

A febre por vírus Zika (ZIKV) é descrita como uma doença febril aguda, autolimitada, com duração de 3-7 dias, geralmente sem complicações graves, porém há registro de mortes e manifestações neurológicas, além de causar a microcefalia.

Parte da população que tenha contato com o vírus não apresenta sintomas, no entanto, os mais comuns são: exantema maculopapular, febre baixa, artralgia, mialgia, dor de cabeça e hiperemia conjuntival não purulenta e sem prurido, enquanto edema, dor de garganta, tosse, vômitos e haematospermia foram relatados com menor frequência. Os sintomas geralmente desaparecem espontaneamente após 3-7 dias.

Segundo o Ministério da Saúde, a definição de caso segue o seguinte critério: indivíduo que apresente exantema maculopapular pruriginoso acompanhado de DOIS ou mais dos seguintes sinais e sintomas: febre (geralmente baixa) OU hiperemia conjuntival sem secreção e prurido OU poliartralgia OU edema periarticular.

3.1) Quando realizar a sorologia para Zika?

A técnica de ELISA para detecção de IgM contra o Zika vírus é uma técnica “*in house*” e será realizada preferencialmente para casos graves, óbitos e crianças microcefálicas ou com alteração neurológicas com suspeita de infecção por Zika vírus. Ainda o teste será realizado para gestantes sintomáticas com exantemas, que não possuem diagnóstico detectável por PCR.

Em áreas onde existe a circulação simultânea dos vírus Dengue e Zika, pode ocorrer reação cruzada em ensaios sorológicos para pesquisa de anticorpos IgM. Com isto, todos os pacientes com suspeita de infecção por Zika terão suas amostras testadas também para Dengue.

A amostra de soro ou líquido deverá ser coletada entre o 5° e o 90° dia do início dos sintomas da doença. Um diagnóstico de qualidade está diretamente relacionado com uma coleta, acondicionamento e transporte adequado.

3.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para Pesquisa de IgM para Zika

Colher assepticamente 10 ml de sangue preferencialmente entre o 5° e 90° dia após o início dos sintomas. Utilizar seringa ou tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificado. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos em temperatura ambiente. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro. Transferir o soro assepticamente para tubo plástico, estéril, com **tampa de rosca**, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Não se recomenda a utilização de amostras de soro que apresentam contaminação microbiana, hemólise ou lipemia.

Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar imediatamente as amostras ao Laboratório Regional, quando descentralizado, ou ao Lacen/GO (não estocar amostras).

Colocar a amostra em saco plástico individualizado e transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível e ficha de cadastro no sistema GAL.

ATENÇÃO: O rótulo deve conter de forma legível o nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, natureza da amostra e número da amostra (se 1ª ou 2ª amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação.

Quadro 4. Amostras para Pesquisa de IgM para Zika

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
IgM Zika	Soro ou líquido A partir do 5º dia de sintomas até 90º dia. (preferência entre o 7º e 45º dia)	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para o diagnóstico de IgM para Zika

4. FEBRE AMARELA

Doença infecciosa febril aguda, transmitida por vetores artrópodes, que possui dois ciclos epidemiológicos distintos (silvestre e urbano). Reveste-se da maior importância epidemiológica, por sua gravidade clínica e elevado potencial de disseminação em áreas urbanas. Definição de caso suspeito: o quadro característico de Febre Amarela é de um indivíduo febril agudo (até 7 dias), de início súbito, acompanhado de icterícia e/ ou manifestações hemorrágicas, residente ou procedente de área de risco para febre amarela ou de locais com ocorrência de epizootias em primatas não humanos ou isolamento de vírus em vetores, nos últimos 15 dias, não vacinado contra febre amarela ou com estado vacinal ignorado.

Este quadro clínico típico é caracterizado por manifestações de insuficiência hepática e renal, tendo em geral apresentação bifásica, com um período inicial prodrômico (infecção) e um toxêmico, que surge após uma aparente remissão e, em muitos casos, evolui para óbito em, aproximadamente, uma semana.

- Período de infecção – dura cerca de 3 dias, tem início súbito e sintomas gerais, como febre, calafrios, cefalalgia, lombalgia, mialgias generalizadas, prostração, náuseas e vômitos.
- Remissão – caracteriza-se pelo declínio da temperatura e diminuição dos sintomas, provocando uma sensação de melhora no paciente. Dura poucas horas, no máximo de 1 a 2 dias.
- Período toxêmico – reaparecem a febre, a diarreia e os vômitos, com aspecto de borra de café. Caracteriza-se pela instalação de quadro de insuficiência

hepato-renal, representado por icterícia, oligúria, anúria e albuminúria, acompanhado de manifestações hemorrágicas (gengivorragias, epistaxes, otorragias, hematêmese, melena, hematúria, sangramentos em locais de punção venosa) e prostração intensa, além de comprometimento do sensório, com obnubilação mental e torpor, com evolução para coma e morte. O pulso torna-se mais lento, apesar da temperatura elevada. Essa dissociação pulso temperatura é conhecida como sinal de Faget.

O diagnóstico laboratorial da febre amarela pode ser realizado por meio de métodos sorológicos (pesquisa de IgM), por métodos virológicos (isolamento viral ou PCR) e por exames anatomopatológicos (imunohistoquímica e histopatológico).

4.1) Quando realizar a sorologia para 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. O material coletado deve ser soro e eventualmente líquido.

Em áreas onde existe a circulação simultânea dos vírus Dengue, Zika e Febre Amarela, pode ocorrer reação cruzada em ensaios sorológicos para pesquisa de anticorpos IgM. Com isto, as amostras coletadas de pacientes com suspeita de Febre Amarela serão também testadas para Dengue e Zika.

4.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para a Pesquisa de IgM para Febre Amarela

Colher assepticamente 10 ml de sangue preferencialmente entre o 4º e 45º dia após o início dos sintomas (máximo até 90 dias em casos de investigação tardia). Utilizar seringa ou tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificado. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos em temperatura ambiente. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro. Transferir o soro assepticamente para

tubo plástico, estéril, com **tampa de rosca**, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C . Não se recomenda a utilização de amostras de soro que apresentam contaminação microbiana, hemólise ou lipemia.

Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar imediatamente as amostras ao Laboratório Regional, quando descentralizado, ou ao Lacen/GO (não estocar amostras).

Colocar a amostra em saco plástico individualizado e transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível e ficha de cadastro no sistema GAL.

ATENÇÃO: O rótulo deve conter de forma legível o nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, natureza da amostra e número da amostra (se 1ª ou 2ª amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação.

Quadro 5. Pesquisa de IgM para Febre Amarela

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
IgM Febre Amarela	Soro ou Líquor A partir do 4º dia até 45º dia de sintomas	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar imediatamente Gelo reciclável em caixa de isopor	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para o diagnóstico de IgM para FA.

4.3) Teste de Isolamento viral para Febre Amarela

O isolamento viral para Febre Amarela é realizado concomitantemente ao teste para Isolamento Viral da Dengue e segue o mesmo processo de cultivo celular e identificação por imunofluorescência utilizando anticorpos monoclonais. Para tanto os cuidados com a obtenção da amostra são:

- a) **Isolamento viral em amostra de soro e sangue total** - as amostras devem ser coletadas até no máximo o 5º dia de sintomas, para realização do isolamento viral e detecção por PCR em conjunto, deverão ser coletadas 02 amostras: 01 soro para o PCR e 01 amostra de sangue total (**sem anticoagulante**) para o isolamento viral. As amostras deverão ser acondicionadas individualmente em tubos criogênicos (criotubos) com tampa de rosca, **fornecidos pelo Lacen-GO** e devem ser devidamente identificados e armazenados em um mesmo saco plástico (um saco plástico para cada paciente). Estas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2° e 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o Lacen-GO. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente (ANEXO C).**
- b) **Isolamento viral em amostras de vísceras** - devem ser coletados 02 fragmentos de aproximadamente 1cm³ de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rins, baço, cérebro, pulmão, pâncreas e coração, em até no máximo 24h após o óbito, e acondicionadas individualmente em tubos criogênicos (criotubos), com tampa de rosca, **fornecidos pelo Lacen-GO**, que devem ser devidamente identificados e armazenados em um mesmo saco plástico (um saco plástico para cada paciente e armazenadas imediatamente em botijão com nitrogênio líquido).

As amostras para isolamento viral poderão ficar refrigeradas entre 2° e 8°C por no máximo 48h, podendo ser encaminhadas ao Lacen/GO em caixas térmicas contendo gelo reciclável desde que não ultrapasse este tempo. É obrigatório registrar o horário e data de coleta da amostra. Para um período superior a 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.

5. CHIKUNGUNYA

A febre do Chikungunya é caracterizada por febre alta, dor de cabeça, dores articulares e dores musculares. A doença aguda é mais comumente caracterizada por febre de início súbito (tipicamente maior que 39°C) e dor articular intensa. Outros

sinais e sintomas podem incluir cefaleia, dor difusa nas costas, mialgia, náusea, vômito, poliartrites, erupção cutânea e conjuntivite. A fase aguda dura em média de 3 - 10 dias.

Na doença subaguda, após os primeiros dez dias, uma recaída dos sinais pode ocorrer com alguns pacientes reclamando de vários sintomas reumáticos, incluindo poliartrites distal, exacerbação da dor em articulações e ossos previamente feridos e tenossinovite hipertrófica nos punhos e tornozelos. A doença crônica é definida por sintomas que persistem mais de três meses. O sintoma persistente mais comum é artralgia inflamatória nas mesmas articulações afetadas durante os estágios agudos.

Embora a maioria das infecções pelo vírus Chikungunya (CHIKV) resultem em febre e artralguas, manifestações atípicas graves podem ocorrer decorrentes dos efeitos diretos do vírus, resposta imunológica e/ou toxicidade dos medicamentos.

5.1) Quando realizar a sorologia para 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. Definição de caso suspeito: paciente com febre alta de início súbito e artralgia ou artrite intensa, não explicada por outras condições e residindo ou tendo visitado áreas endêmicas (ou epidêmicas) até duas semanas antes do início dos sintomas.

Havendo disponibilidade do kit Chikungunya IgG, as amostras encaminhadas para a testagem de Chikungunya IgM poderão ser testadas para este marcador após análise da ficha epidemiológica.

5.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para a pesquisa de IgM para Chikungunya

Colher assepticamente 10 ml de sangue preferencialmente entre o 5º e 90º dia após o início dos sintomas. Utilizar seringa ou tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificado. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos em temperatura

ambiente. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro. Transferir o soro assepticamente para tubo plástico, estéril, com **tampa de rosca**, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C . Não se recomenda a utilização de amostras de soro que apresentam contaminação microbiana, hemólise ou lipemia.

Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar imediatamente as amostras ao Laboratório Regional, quando descentralizado, ou ao Lacen-GO (não estocar amostras).

Colocar a amostra em saco plástico individualizado e transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível e ficha de cadastro no sistema GAL.

ATENÇÃO: O rótulo deve conter de forma legível o nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, natureza da amostra e número da amostra (se 1ª ou 2ª amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação.

Quadro 6. Pesquisa de IgM e IgG para Chikungunya

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
IgM Chikungunya	Soro ou líquido A partir do 5º dia até no máximo 90º dia de sintomas	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para o diagnóstico de IgM para CHIKV.
IgG Chikungunya	Soro A partir do 15º dia de sintomas	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor	Será realizado após avaliação dos critérios epidemiológicos e clínicos com IgM negativo

6. MAYARO

A febre do Mayaro é uma doença infecciosa febril aguda, causada por um vírus, que pode causar uma doença de curso benigno semelhante a dengue. Normalmente, após uma ou duas semanas o paciente se recupera completamente. Entretanto, parte dos pacientes pode apresentar queixa de artralgia intensa, acompanhada ou não de edema nas articulações. A lesão pode ser limitante ou incapacitante e durar por meses, quando a recuperação é mais prolongada.

Segundo o Ministério da Saúde, por não existir até o momento na literatura, relato de casos de transmissão urbana, todos os casos clínicos de relatos de febre aguda, com artralgia de pessoas residentes ou com histórico de deslocamento para áreas rurais, além de qualquer outra área ou região com casos confirmados laboratorialmente de Mayaro, e descartadas outras causas aparentes, devem ser investigadas para febre do Mayaro, com coleta de amostras biológicas para o diagnóstico laboratorial.

6.1) Quando realizar a sorologia para Mayaro?

Neste momento, o teste de pesquisa de IgM deve ser realizado para todos os casos suspeitos da doença.

Em áreas onde existe a circulação simultânea dos vírus Mayaro e Chikungunya, pode ocorrer reação cruzada em ensaios sorológicos para pesquisa de anticorpos IgM. Com isto, todas as amostras encaminhadas ao Lacen/GO serão testadas também para Chikungunya.

6.2) Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras para a Pesquisa de IgM para Mayaro

Colher assepticamente 10 ml de sangue preferencialmente entre o 5° e 90° dia após o início dos sintomas. Utilizar seringa ou tubo a vácuo, sem anticoagulante, previamente identificado. Esperar a retração do coágulo por 30 minutos em temperatura

ambiente. Centrifugar a 4.000 rpm por 10 minutos e separar 2 a 4 ml de soro. Transferir o soro assepticamente para tubo plástico, estéril, com **tampa de rosca**, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C . Não se recomenda a utilização de amostras de soro que apresentam contaminação microbiana, hemólise ou lipemia.

Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar imediatamente as amostras ao Laboratório Regional, quando descentralizado, ou ao Lacen-GO (não estocar amostras).

Colocar a amostra em saco plástico individualizado e transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável. As amostras deverão estar acompanhadas de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível e ficha de cadastro no sistema GAL.

ATENÇÃO: O rótulo deve conter de forma legível o nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data da coleta, natureza da amostra e número da amostra (se 1^a ou 2^a amostra), usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação.

Quadro 7. Pesquisa de IgM para Mayaro

	Coleta	Armazenamento	Transporte	Observações
IgM Mayaro	Soro ou Líquor A partir do 5º dia até no máximo 90º dia de sintomas	-20°C (Congelar) Alternativa: 2 a 8°C (Refrigerar) por no máximo 7 dias, após esse período a amostra deve ser congelada	Enviar em até 7 dias Gelo reciclável em caixa de isopor	Seguir rigorosamente os critérios de seleção dos pacientes elegíveis para o diagnóstico de IgM para MAYV.

SESSÃO B

DIAGNÓSTICO POR BIOLOGIA MOLECULAR /
RT-PCR EM TEMPO REAL

7. DENGUE

O teste de detecção e tipagem do vírus dengue por RT-PCR em Tempo Real (RT-qPCR) é realizado pela Seção de Biologia Molecular do Lacen/GO, utilizando-se a amplificação do RNA do vírus por RT-qPCR “in house”, com a utilização de conjuntos de primers específicos para os quatro sorotipos do vírus dengue, segundo protocolo referenciado pelo CDC em 2013 e repassado pelo Laboratório de Referencia Nacional para Arbovírus IEC-PA, aos Lacens.

O diagnóstico molecular da dengue é fundamental para a identificação dos sorotipos virais circulantes e detecção precoce do surgimento de um novo sorotipo, contribuindo de maneira importante para o sistema de vigilância epidemiológica da doença. A PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) é útil durante o período de viremia da doença.

A viremia inicia-se durante o período febril e a amostra adequada para realização de RT-PCR teria de ser coletada **preferencialmente durante os cinco primeiros dias de sintomas**, sendo até o 7º dia passível de realização do teste em casos excepcionais. Amostras coletadas a partir do sétimo dia até o décimo apresentam baixíssima chance de serem detectadas por esta metodologia.

O teste de Detecção Qualitativa do RNA do vírus Dengue é direcionado para identificação diagnóstica de sorotipo viral em casos graves de Dengue com complicações, principalmente neurológica ou quadros de infecção crônica com suspeita de viremia, além de casos de diagnóstico diferencial pós *mortem*. Desta forma os principais espécimes clínicos utilizados para pesquisa do vírus Dengue por RT-PCR são SORO, LCR (Líquido Cefalorraquidiano) e Fragmentos de Tecidos coletados de pacientes suspeitos pelos SVO (Serviço de Verificação de Óbitos).

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de pedido médico da unidade solicitante descrevendo o quadro e cópia da ficha epidemiológica de registro no SINAN.

A realização de um exame de biologia molecular de qualidade depende essencialmente de coleta, armazenamento e transporte realizados de maneira adequada das amostras a serem analisadas.

7.1. Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para realização do teste de RT-qPCR para dengue

A Detecção e Tipagem do vírus Dengue por RT-qPCR têm grande relevância na elucidação de quadros graves da doença em dois espécimes clínicos:

- a) **Soro (pelo menos 1 mL)** - Coletar assepticamente 2 a 5 ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulantes entre **1º e 5º dia** após o início dos sintomas. Separar o soro após a retração do coágulo em tempo mínimo possível (centrifugar a 1.500 rpm, durante 10 minutos). A amostra pode ficar a temperatura ambiente por no máximo 2 horas ou em geladeira (4°C) por no máximo 4 horas até o envio ao laboratório. Armazenamento no Lacen-GO a -70°C.
- b) **LCR (pelo menos 1 mL) – Líquido Cefalorraquidiano / Líquor** - Após coleta, o material deve ser colocado em criotubo estéril e devidamente rotulado com os dados do paciente, enviado imediatamente ao laboratório em até 2 horas ou acondicionado em botijão contendo nitrogênio líquido até o envio. Estocagem em geladeira (4°C) até o envio, por no máximo 2 horas. Armazenamento no Lacen-GO a -70°C.

As amostras deverão ser acondicionadas em tubos plásticos descartáveis estéreis com tampa de rosca, devidamente rotulados e lacrados. Vale ressaltar que estes tubos devem suportar congelamento as baixas temperaturas (tubos criogênicos). Após a coleta e congelamento para envio ao Lacen/GO em hipótese alguma o material deverá ser descongelado, o que inviabiliza a realização do exame.

7.2. Orientação para rotulagem e envio das amostras para realização do teste de RT-qPCR para dengue

Colocar a amostra em saco plástico individualizado (separar por paciente), dentro de uma canaleta identificada no botijão de nitrogênio líquido, **imediatamente após a coleta e preparação**. Sugere-se tampar a canaleta do botijão com um chumaço de algodão para que o tubo não se perca dentro deste. No caso de envio da amostra em isopor contendo gelo seco, observar se a quantidade do mesmo é suficiente até a chegada da caixa de isopor ao Lacen/GO.

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de ficha epidemiológica devidamente preenchida e legível ou cópia da mesma, pedido médico específico para teste de biologia molecular (RT-PCR para Dengue) com descritivo da suspeita médica e a fichas de cadastro no GAL.

O rótulo deve conter nome do exame, nome do paciente completo e por extenso, data e hora da coleta e natureza da amostra, usar etiquetas com tinta resistente aos meios de conservação e escrita de forma legível.

Quadro 8. Orientações de Coleta e Envio de Amostras para diagnóstico molecular de Dengue por RT-qPCR

Tipo de diagnóstico	Tipo de espécime biológico	Recipiente/ Volume	Período para coleta	Armazenamento/ Conservação	Transporte
RT-qPCR	Soro Obtenção de amostras: punção venosa (casos graves) ou punção intracardíaca (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	1° ao 5° dia de sintomas	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) Máx. 4h até chegar no Lacen-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor por no máximo 4 horas
	Líquor Punção lombar ou coleta a partir da necropsia (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	Complicações neurológicas (casos graves) Logo após o óbito (ideal em até 8 horas)	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) máx. 4h até chegar no LACEN-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor por no máximo 4 horas
	Fragmentos de Tecidos Coleta a partir da necropsia (óbito) Fígado, baço, Cérebro, pulmão, rins, coração e linfonodos	Criotubo: Fragmento de 1cm ³	Logo após o óbito (ideal em até 8 horas)	Botijão de Nitrogênio ou Freezer -70° C	Botijão de Nitrogênio ou Gelo Seco
	Derrames Cavitários Coleta a partir da necropsia (óbito) Líquido Ascítico, Derrame Pleural e Derrame Pericárdico	Criotubo: 2 mL de amostra	Logo após o óbito (ideal em até 8 horas)	Botijão de Nitrogênio ou Freezer -70° C	Botijão de Nitrogênio ou Gelo Seco

Fonte: Guia de Vigilância /SVS/MS ampliado

8. ZIKA

O teste de detecção do RNA do vírus Zika é direcionado para confirmação diagnóstica de casos suspeito de gestante com exantema maculopapular pruriginoso, casos de manifestações neurológicas com histórico de infecção viral prévia, crianças recém-nascidas com microcefalia e óbitos suspeitos de envolvimento com ZIKV. A metodologia utilizada é RT-PCR em Tempo Real segundo LRN-IEC/CDC, 2016.

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de pedido médico da unidade de saúde e cópia da ficha de Notificação/Conclusão e fichas de cadastro no GAL.

8.1. Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para realização do teste de RT-PCR para Zika

8.1.1 Tipos de Amostras:

a) Gestante com suspeita de infecção por ZIKV:

- **Soro:** Venopunção em tubo sem anticoagulante, colher **até o 5º dia** do início dos sintomas.
- **Urina:** Coletar amostra de urina em recipiente estéril e encaminhar alíquota de no mínimo 3 mL em tubo cônico tipo falcon ou em criotubo (com pelo menos 1 mL em cada) , **até o 8º dia** do início dos sintomas.

b) Neonato com Microcefalia suspeita por ZIKV:

- **Sangue do Cordão Umbilical:** Proceder à coleta por conveniência no momento do parto e priorizar a separação do soro.
- **Urina:** Proceder a coleta por conveniência em Coletor infantil e encaminhar alíquota de no mínimo 1 mL em criotubo ou de no mínimo 3 mL em tubo cônico tipo falcon.
- **LCR:** Punção lombar (punção espinal). Procedimento a ser realizado por critério do médico responsável.
- **Fragmento de Placenta:** Proceder à coleta por conveniência no momento do parto. Coletar fragmentos de até 1cm³.

c) Nati-morto com Microcefalia/má-formação suspeita por ZIKV:

- **Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO:** Coletar fragmentos de até 1cm³.

d) Óbito suspeito por ZIKV encaminhado do SVO:

- **Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO:** Em caso de óbito, coletar fragmento de tecido dos sítios com lesão evidenciada, preferencialmente: fígado, baço, cérebro, e linfonodos. Outras amostras como sangue pós-óbito e LCR deverão ser coletadas para pesquisa pareada do vírus. Todas as amostras deverão ser acondicionadas em microtubos distintos e identificadas de acordo com o sítio coletado. Armazenar em botijão de nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.

8.1.2 Material e conservação para envio:

- 1 ml de Soro:** Separar o soro realizando a retração do coágulo em tempo mínimo possível. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.
- Urina:** Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.
- Sangue do Cordão Umbilical:** Separar o soro realizando a retração do coágulo em tempo mínimo possível. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.
- 1 ml de LCR:** Após coleta o material deve ser enviado imediatamente ao laboratório. Estocagem em geladeira (~4°C) até o envio pode ocorrer por no máximo 4 horas. Armazenar a -80°C.
- Fragmento de Placenta:** Coletar fragmentos de até 1cm³. Os fragmentos deverão ser acondicionados em criotubo com identificação da amostra e data da coleta. Encaminhar imediatamente ou armazenar em botijão de nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.

- f) **Fragmentos das Vísceras provenientes de Feto Morto encaminhado pelo SVO:** Em caso de óbito, colher fragmento de fígado, baço, cérebro e pulmão. Outras amostras poderão ser coletadas de acordo com critério médico. Coletar fragmentos de até 1cm³. Os fragmentos deverão ser acondicionados em criotubos distintos e identificados de acordo com o sítio coletado. Armazenar em botijão de nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.

8.1.3 Acondicionamento e Transporte

As amostras deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos), com tampa de rosca, devidamente rotulados e lacrados.

Para todas as amostras: Em até 24 horas o transporte deverá ser feito preferencialmente em caixa de isopor contendo gelo seco, ou em botijão de nitrogênio líquido até o laboratório executor.

9. FEBRE AMARELA

O diagnóstico molecular do vírus da Febre Amarela é realizado através da técnica RT-PCR em tempo real e é recomendado para fase inicial dos sintomas (3 a 5 dias) em amostras de soro. O RNA do vírus amarílico pode ser identificado no soro ou fragmento de tecidos (especialmente fígado) encaminhados pelos SVO.

No atual cenário de circulação de vários arbovírus, há relevância na avaliação laboratorial de todos os casos suspeitos e de diagnóstico diferencial para casos de óbitos encaminhados pelos SVO. A metodologia utilizada é RT-PCR em Tempo Real segundo LRN-IEC, 2016.

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de cópia da ficha de investigação de Febre Amarela e ficha de cadastro no GAL.

9.1. Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para realização do teste de RT-qPCR para Febre Amarela

9.1.1 Tipos de Amostras e Conservação:

a) **Soro:** Venopunção em tubo sem anticoagulante, colher do 01 até 07 dias (ideal 3 a 5) do início dos primeiros sintomas. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao LACEN-GO.

b) **Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO:** Em caso de óbito, coletar fragmento de fígado, baço, cérebro e pulmão (Coletar fragmentos de até 1cm³). Outras amostras, como LCR ou sangue post mortem, poderão ser coletadas de acordo com critério médico. Os fragmentos deverão ser acondicionados em criotubos distintos e identificados de acordo com o sítio coletado. Armazenar em botijão de nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.

9.1.2 Acondicionamento e Transporte:

As amostras deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos), novos com tampa de rosca, devidamente rotulados e lacrados. Os tubos devem suportar congelamento a baixas temperaturas.

Para todas as amostras: Em até 24h o transporte deverá ser feito preferencialmente em caixa de isopor contendo gelo seco, ou em botijão de nitrogênio líquido até o laboratório executor.

Quadro 9. Orientações de coleta, conservação e transporte das amostras para diagnóstico molecular por RT-qPCR de Febre Amarela.

Tipo de diagnóstico	Tipo de material	Volume	Período da Coleta	Armazenamento/ conservação	Transporte
RT-qPCR	Soro Punção venosa (casos graves) ou punção intracardíaca (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	Coletar o sangue sem anticoagulante entre 1 e 7 dias (ideal 3-5) após o início dos sintomas.	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) máx. 24hs até chegar no LACEN-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor
	Fragmentos de Tecidos Coleta a partir da necropsia (óbito) Fígado, baço, Cérebro, pulmão, rins, coração e linfonodos	Criotubo: Fragmento de 1cm ³	Obtenção das amostras deverá ser o mais precoce possível (ideal antes de 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas)	Botijão de Nitrogênio ou Freezer -70° C	Botijão de Nitrogênio ou Gelo Seco

Fonte: Guia de Vigilância Epidemiológica/SVS/MS

10. CHIKUNGUNYA

O teste de Detecção do RNA do vírus Chikungunya é direcionado para confirmação diagnóstica de casos notificados de Febre Chikungunya que apresentem quadro clínico característico da doença ou vínculo epidemiológico de infecção. No atual cenário de circulação de vários arbovírus, há relevância na avaliação laboratorial de todos os casos suspeitos e de diagnóstico diferencial para casos de óbitos encaminhados pelos SVO. A metodologia utilizada é RT-PCR em Tempo Real segundo LRN-IEC/CDC, 2016.

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de pedido médico da unidade de saúde e cópia da ficha de investigação de Febre Chikungunya e fichas de cadastro no GAL.

10.1. Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para realização do teste de RT-PCR para Chikungunya

10.1.1. Tipos de Amostras:

- a) **Soro:** Venopunção em tubo sem anticoagulante, coletar até 08 dias do início das manifestações clínicas.
- b) **LCR:** Punção lombar (punção espinal).
- c) **Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO:** Coletar fragmentos de até 1cm³.

10.1.2 Material e conservação para envio

- a) **Soro (pelo menos 1 mL):** Separar o soro realizando a retração do coágulo em tempo mínimo possível. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO;
- b) **LCR (pelo menos 1 mL):** Após coleta o material deve ser enviado imediatamente ao laboratório. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 4 horas, após este período conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO;

c) Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO: Em caso de óbito suspeito, coletar fragmentos de fígado, baço, cérebro e pulmão. Outras amostras poderão ser coletadas de acordo com critério médico;

*As amostras deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos), novos com tampa de rosca, devidamente rotulados e lacrados. Os criotubos devem suportar congelamento a baixas temperaturas.

Quadro 10. Orientações de Coleta e Envio de Amostras para diagnóstico molecular de Chikungunya por RT-qPCR

Tipo de diagnóstico	Tipo de espécime biológico	Recipiente/ Volume	Período para coleta	Armazenamento/ Conservação	Transporte
RT-qPCR	Soro Obtenção de amostras: punção venosa (casos graves) ou punção intracardíaca (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	1º ao 8º dia de sintomas	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) máx. 24h até chegar no Lacen-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor
	Líquor Punção lombar ou coleta a partir da necropsia (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	Complicações neurológicas (casos graves) Logo após o óbito (ideal em até 8 horas)	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) máx. 4h até chegar no Lacen-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor
	Fragmentos de Tecidos Coleta a partir da necropsia (óbito) Fígado, baço, Cérebro, pulmão, rins, coração e linfonodos	Criotubo: Fragmento de 1cm ³	Logo após o óbito (ideal em até 8 horas)	Botijão de Nitrogênio ou Freezer -70° C	Botijão de Nitrogênio ou Gelo Seco

Fonte: Guia de Vigilância /SVS/MS ampliado

11. MAYARO

O diagnóstico molecular do vírus Mayaro é realizado através da técnica RT-PCR em tempo real e é recomendado para fase inicial dos sintomas (viremia) em amostras de soro. O RNA do vírus pode ser identificado no soro ou fragmento de tecidos provenientes de óbitos suspeitos, encaminhados pelos SVO.

No atual cenário de circulação de vários arbovírus na região centro-oeste, há relevância na avaliação laboratorial de todos os casos suspeitos e de diagnóstico diferencial para casos de óbitos encaminhados pelos SVO. A metodologia utilizada é RT-PCR em Tempo Real segundo LRN-IEC, 2016.

Para realização do exame a amostra deverá estar acompanhada de cópia da ficha de investigação identificada e ficha de cadastro no GAL.

11.1 Coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para realização do teste de RT-qPCR para Mayaro

11.1.1 Tipos de Amostras e Conservação:

- a) **Soro:** Venopunção em tubo sem anticoagulante, colher do 1° até 5° dias do início dos primeiros sintomas. Armazenar de 2°C a 8°C – máximo 24h, após 24h conservar em botijão com nitrogênio líquido até o envio ao Lacen-GO.
- b) **Fragmentos de Vísceras provenientes do SVO:** Em caso de óbito, coletar fragmento de fígado, baço, cérebro e pulmão (Coletar fragmentos de até 1cm³). Outras amostras, como LCR ou sangue post mortem, poderão ser coletadas de acordo com critério médico. Os fragmentos deverão ser acondicionados em criotubos distintos e identificados de acordo com o sítio coletado. Armazenar em botijão de nitrogênio líquido até o envio ao Lacen/GO.

11.1.2 Acondicionamento e Transporte:

As amostras deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos), novos com tampa de rosca, devidamente rotulados e lacrados. Os tubos devem suportar congelamento a baixas temperaturas.

Para todas as amostras: Em até 24h o transporte deverá ser feito preferencialmente em caixa de isopor contendo gelo seco, ou em botijão de nitrogênio líquido até o laboratório executor.

Quadro 11. Orientações de coleta, conservação e transporte das amostras para diagnóstico molecular por RT-qPCR de Febre do Mayaro.

Tipo de diagnóstico	Tipo de material	Volume	Período da Coleta	Armazenamento/conservação	Transporte
RT-qPCR	Soro Punção venosa (casos graves) ou punção intracardíaca (óbito)	Criotubo: 2 mL de amostra	Coletar o sangue sem anticoagulante entre 1 e 5 dias após o início dos sintomas.	Botijão de Nitrogênio Alternativamente: 2 a 8°C (Refrigerar) máx. 24h até chegar no Lacen-GO	Botijão de Nitrogênio Gelo reciclável em caixa de isopor
	Fragmentos de Tecidos Coleta a partir da necropsia (óbito) Fígado, baço, Cérebro, pulmão, rins, coração e linfonodos	Criotubo: Fragmento de 1cm ³	Obtenção das amostras deverá ser o mais precoce possível (ideal antes de 8 horas após óbito; no máximo em 24h)	Botijão de Nitrogênio ou Freezer -70° C	Botijão de Nitrogênio ou Gelo Seco

Fonte: <http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/o-ministerio/principal/leia-mais-o-ministerio/1205-secretaria-svs/vigilancia-de-a-a-z/febre-do-mayaro/21159-vigilancia-epidemiologica>

SESSÃO C

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM CASO DE
ÓBITO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR
ARBOVÍRUS

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS

Serão testadas de acordo com a hipótese diagnóstica levando-se em consideração as características e condições de cada amostra e as possibilidades das metodologias.

12. Instruções para a coleta de amostras em situação de óbito

Recomendações para os óbitos suspeitos de arboviroses sem o diagnóstico etiológico prévio (ANEXO E).

Em se tratando de óbito devem-se garantir as amostras necessárias para a investigação laboratorial e confirmação diagnóstica, sendo que as amostras preferenciais devem ser sangue total, soro e vísceras, podendo em alguns casos serem utilizadas outras amostras como líquido, líquido ascítico, etc.

- 1- **Sangue total e soro** - para obtenção de sangue total e soro deve ser coletado sangue por punção intra-cárdica em até 8h após o óbito ou em vasos de grande calibre como a femoral e jugular, obtendo-se assim:

- a) *Duas amostras de soro.*

Que serão utilizadas pelo Lacen/GO para as técnicas de sorologia Elisa (IgM e/ou NS1) e PCR. Sendo que uma amostra deve ser **obrigatoriamente** armazenada em botijão de nitrogênio (com um mínimo de 12cm de nitrogênio) para a técnica de PCR e a outra amostra **pode ser** armazenada em botijão de nitrogênio ou sob refrigeração em temperatura entre 2°C e 8°C, para as técnicas Elisa. Amostras fortemente hemolisadas podem impossibilitar as análises sorológicas.

- b) *Uma amostra de sangue total.*

Que será utilizada pelo Lacen/GO para a técnica de isolamento viral para dengue e febre amarela. Sendo que esta amostra pode ser armazenada entre 2° e 8°C por no máximo 48h e para período maior, obrigatoriamente

armazenada em botijão de nitrogênio (com um mínimo de 12cm de nitrogênio).

- 2- **Vísceras** - devem ser coletadas amostras de fígado, pulmões, rins, baço, coração, pâncreas e cérebro, sendo estes os espécimes de escolha para as análises anatomopatológicas, PCR e isolamento viral em vísceras. Coletar no mínimo 3 (três) fragmentos de cada tecido com dimensões aproximadas de 1cm.

Estes fragmentos devem ser segregados e armazenados da seguinte forma:

- a) Vísceras “in natura” para isolamento viral e PCR - 02 amostras de cada sítio

Acondicionar separadamente (por sítio) em **criotubos**, que devem estar devidamente identificados com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Não é necessário nenhum conservante ou meio de cultura. Estes criotubos devem ser armazenados imediatamente em botijão de nitrogênio (mínimo de 12cm de nitrogênio).

- b) Vísceras para anatomopatológico (histopatológico e Imunohistoquímica) – 01 amostra de cada sítio

Acondicionar separadamente (por sítio) em tubos tipo falcon, preferencialmente de 15ml, contendo formalina tamponada a 10% ou em blocos de parafina. O volume de formalina tamponada a 10% deve ser suficiente para cobrir em até duas vezes a amostra acondicionada, não devendo ficar nenhuma parte da amostra fora do líquido. Os tubos ou blocos de parafina devem estar devidamente identificados com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra, devendo ser armazenados à temperatura ambiente.

3- Líquidos cavitários – pleural, ascítico e pericárdio.

Coletar líquidos cavitários para realização de RT-PCR. As amostras devem ser acondicionadas em criotubos devidamente identificados e armazenados em botijão contendo nitrogênio líquido.

Vale ressaltar que as amostras coletadas de órgãos diferentes devem ser acondicionadas em recipientes separados e identificados – um tubo para cada tipo de amostra e exame a que se destina, por exemplo: dois criotubos com fragmentos de pulmão (deverá ser armazenados no botijão de nitrogênio e encaminhados para PCR e isolamento viral) e outro tubo tipo falcon com formalina contendo outro fragmento de pulmão (armazenado em temperatura ambiente para os exames anatomopatológicos).

Espécimes de qualquer outro órgão, que apresentem alteração macroscópica, poderão ser encaminhados para investigação de etiologia viral.

Todas as amostras, ao serem encaminhadas para o LACEN/GO, devem estar acompanhadas da ficha do SVO (de notificação (SINAN), ficha solicitação de exame anatomopatológico), ficha impressa do cadastro no GAL, lista impressa de exames encaminhados para o LACEN (GAL) e o laudo médico ou histórico do paciente (quando houver).

As amostras que não são processadas no Lacen/GO, como as vísceras para o teste anatomopatológico, são encaminhadas ao Instituto Evandro Chagas (IEC), em Belém do Pará, sendo este um Laboratório de Referência Nacional para diagnóstico de arboviroses.

Tão logo estes resultados sejam recebidos pelo Lacen/GO, os mesmos serão notificados via e-mail assim como ficarão disponíveis para os solicitantes. A notificação destes casos, no Lacen/GO, é realizada pelo Núcleo de Vigilância Laboratorial (ANEXO E).

SESSÃO D
BOTIJÃO DE NITROGÊNIO

13. Manuseio do botijão de nitrogênio

O botijão é um recipiente térmico com isolamento a vácuo para conservar as amostras congeladas a uma temperatura de -196°C (cento e noventa e seis graus centígrados negativos) por tempo indeterminado, para tanto deve receber nitrogênio líquido, desde que se mantenha um determinado nível mínimo, abastecendo-o periodicamente.

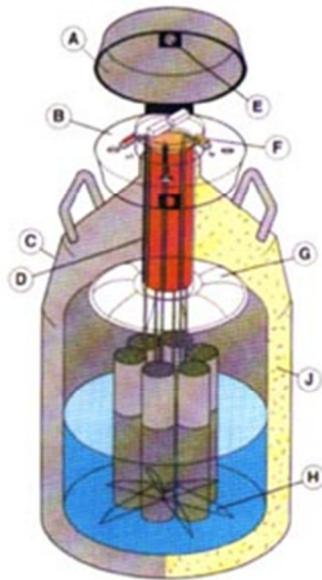
O botijão deve ser manipulado com o máximo cuidado para evitar danos que possam resultar em prejuízos. Para diminuir os riscos com o botijão, é aconselhável a construção de uma caixa de madeira para seu acondicionamento. O botijão não pode sofrer choques (batidas), nem movimentos muito bruscos, além de tombar o que causaria o derramamento do seu conteúdo.

O nitrogênio líquido evapora constantemente, devendo o técnico estar atento para evitar perda de amostras por falta de nitrogênio.

Deve-se medir regularmente o seu nível com medidor apropriado (régua). Consumo elevado de nitrogênio pode indicar problemas com o botijão, assim como a formação de gelo ou umidade condensada sobre qualquer superfície externa, também pode indicar defeito ou estar danificado (caso haja formação de gelo no gargalo, prendendo a tampa, não tente removê-la com objetos pontudos, nem exagerar na força).

É bom lembrar que muito próximo à boca do botijão o material armazenado poderá se expor a temperaturas que poderão causar danos à qualidade deste material, para tanto é necessário à utilização da pinça. Desta forma apenas o material a ser retirado estará em contato com a temperatura externa.

Figura 1. Representação esquemática de um botijão de nitrogênio



- A- Tampa protetora
- B- Apoio da tampa
- C- Estrutura de alumínio
- D- Pescoço em isolante
- E- trava da tampa
- F- Canecas identificadas
- G- Sistema químico para retenção do vácuo
- H- Apoio das canecas
- J- Super Isolamento a vácuo

13.1. Cuidados com o botijão de nitrogênio

- Manter o botijão em ambiente ventilado, seco, ao abrigo de raios solares, fechando-o apenas com sua própria tampa;
- Não bater ou tombar, pois pode provocar a perda do vácuo, mesmo sem apresentar danos externos;
- O seu conteúdo é líquido e o manuseio incorreto pode causar sérios ferimentos (evite contato com as partes do corpo);
- Retirar as racks vazias, para diminuir o consumo de nitrogênio e facilitar seu manejo;
- Nunca vedar a tampa para impedir a evaporação do líquido;
- Use apenas adesivo para fixar qualquer tipo de identificação;

- Para resfriar o botijão coloque cuidadosamente 0,5 a 1,0 litro de nitrogênio com auxílio de um funil, aguarde meia hora e em seguida complete o nível de forma lenta. Aguardar 24 horas para ver a taxa de resfriamento;

- Não transportar o botijão solto em carrocerias de veículos (deve ser transportado em caixas de madeira, preso na posição vertical, mesmo quando estiver vazio); ao transportar em veículos fechados, observar que haja ventilação;

- Nunca derrame o líquido em recinto fechado, pois pode provocar asfixia pela redução da quantidade de oxigênio;

- Evite o contato direto com o nitrogênio líquido ou peças metálicas que estejam em contato com o líquido;

- Movimentá-lo sempre com 2 pessoas;

- Medir regularmente o nível de nitrogênio;

- Nunca deixar atingir níveis inferiores a 12 cm de nitrogênio líquido.

Observação: os tubos para acondicionamento das amostras de sangue total para o diagnóstico virológico (criotubos) serão disponibilizados pelo Lacen/GO às Regiões de Saúde conforme cota mensal estabelecida (ver tabela 1). Ficará sob a responsabilidade da Região de Saúde realizar a distribuição dos criotubos aos municípios pertencentes à sua região, assim como o gerenciamento dos botijões de nitrogênio entre os municípios.

O LACEN/GO é responsável pelo abastecimento dos botijões de nitrogênio líquido. Esse procedimento será realizado junto aos representantes das Regiões de Saúde do Estado.

SESSÃO E
FLUXO DE RESULTADOS

14. FLUXO DE RESULTADOS

O sistema GAL já está implantado em todo o estado de Goiás, sendo que os municípios e unidades estaduais devem cadastrar todos os exames solicitados ao Lacen/GO neste sistema. Os laudos, após liberação, ficarão disponíveis imediatamente no próprio sistema para impressão destes pelos solicitantes, diminuindo o tempo de espera e otimizando os resultados.

Para o anatomopatológico o Lacen/GO encaminha as amostras para o Instituto Evandro Chagas, que é o Laboratório de Referência Nacional em Arboviroses os resultados provenientes deste laboratório são recebidos por e-mail e posteriormente via malote, sendo repassados, via ofício, para a Gerência de Vigilância Epidemiológica das Doenças Transmissíveis e para o SVO da cidade de Goiânia, que detêm o maior número de óbitos enviados ao Lacen-GO. No entanto, os casos positivos são notificados por e-mail, pelo Núcleo de Vigilância Laboratorial do LACEN/GO (VIDE ANEXO E).

Obs.: As Coordenações Estaduais das Arboviroses da SES (SUVISA) tem acesso aos relatórios e resultados liberados pelo Lacen/GO através do GAL. Todo resultado positivo para agravos de notificação compulsória e/ou imediata é notificado imediatamente à Coordenação Geral de Laboratório - CGLAB, à Vigilância Epidemiológica Estadual e ao município de notificação via e-mail.

Os casos de óbitos suspeitos por arboviroses são acompanhados pela Seção de Vigilância Laboratorial do Lacen/GO e os resultados são encaminhados a partir desta seção.

Importante: Todo resultado positivo referente aos agravos de notificação compulsória de acordo com a Portaria 204 de 17 de fevereiro de 2016 são notificados imediatamente via e-mail ao serviço de Vigilância Epidemiológica Estadual e ao município de notificação, pelo Núcleo de Vigilância Laboratorial do Lacen/GO.

REFERÊNCIAS

Brasil 2002. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Programa Nacional de Controle da Dengue – PNCD/Fundação Nacional de Saúde. Brasília, 2002.

_____. 2006. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de técnicas para o diagnóstico laboratorial de dengue. Brasília, 2006.

_____. 2009. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue. 1º ed. Brasília, 2009.

_____. 2011. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Diretoria Técnica de Gestão. Dengue: diagnóstico e manejo clínico – adulto e criança. 4. ed. Brasília, 2011.

_____. 2014. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, departamento de vigilância epidemiológica, *Guia de Vigilância em Saúde*, 1ed, Editora MS, Brasília-DF.

_____. 2016. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, departamento de vigilância epidemiológica, *Guia de Vigilância em Saúde*, 1ed, Editora MS, Brasília-DF.

Igarashi A. Isolation of a Singh's *Aedes albopictus* cell clone sensitive to dengue and chikungunya viruses. *J. Gen. Virol* 1978;40:531-44

Kuno G, Gomez I, Gubler DJ. Detecting artificial antidengue IgM immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg.* 1987;36:153–9.

Lanciotti RS, Calisher CH, Gubler DJ, Chang GJ, Vorndam AV. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1992;30:545–51.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Coordenação Geral do Programa Nacional de Controle da Dengue. Reunião Nacional de Atualização da Vigilância Epidemiológica da Dengue. Estudo de caso – Aplicação da nova classificação dos casos de dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 02 e 03 out. 2013.

WHO 2009. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New ed., TDR: World Health Organization, Geneva, x, 147 pp.

Vanzin, IM. Inseminação artificial e manejo reprodutivo dos bovinos. Disponível em: http://www.inseminacaoartificial.com.br/Manejo_botijao.htm. Acesso em: 28 mar. 2017.

ANEXOS

ANEXO A: FORMULÁRIO DE AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DIAGNÓSTICO DE DENGUE – SOROLOGIA IgM

		Secretaria Estadual de Saúde Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros Av. Contorno, nº 3556 – Jardim Bela Vista Goiânia-Goiás Tel.: (0xx62) 3201-3888				
Título: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DIAGNÓSTICO DA DENGUE - SOROLOGIA IgM					Número: SEVIR 51	
1- Identificação da Instituição:						
Nome: _____						
Endereço: _____						
CEP: _____				Cidade/Estado: _____		
Telefone: _____				Fax: () _____		
Diretor de Instituição: _____						
2- EIE IgM Dengue:						
Kit comercial utilizado: _____						
Data da validade do kit: _____						
Lote: _____						
Técnico responsável: _____						
DATA	NÚMERO DA AMOSTRA	LEITURA DE AMOSTRA (DO)	VALOR DE CORTE (CO)	RESULTADO	RESULTADOS DO LACEN	
					Kit comercial	MAC ELISA
Observações: _____						

Data: ____ / ____ / ____						
					Revisão 00	16/01/2017
						Página 1/1

ANEXO B: FICHA DE ENCAMINHAMENTO PARA REALIZAÇÃO DE EXAME CONFIRMATÓRIO



Secretaria Estadual de Saúde
Laboratório de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros
Av. Contorno, nº 3556 – Jardim Bela Vista
Goiânia-Goiás
Tel.: (0xx62) 3201-3888

Título: FICHA DE ENCAMINHAMENTO PARA REALIZAÇÃO DE EXAME CONFIRMATÓRIO	Número: SEVIR 52
--	------------------

Exame a ser confirmado: _____
 Nome do paciente: _____
 Data de Nascimento: _____ Sexo: _____ Telefone: _____
 Endereço: _____ Cidade: _____
 Carteira de Identidade: _____ Cartão SUS: _____
 Nome da mãe: _____
 Gestante: () Sim () Não CID 10: _____

DADOS SOBRE SOROLOGIA

Material	Data de coleta	Exame realizado (marca do kit e metodologia)	Resultado do exame realizado (DO e Cut-off)	Data da realização	Dados clínicos (obs3)

Unidade de Saúde: _____ CNES: _____
 Endereço: _____ Telefone: _____
 Responsável: _____ Data: ____/____/____
 Regional de Saúde: _____

- Obs1:** Anexar pedido médico.
Obs2: Anexar ficha epidemiológica nos agravos de notificação compulsória (conforme Portaria N°. 5 da SVS).
Obs3: Colocar dados sobre os sintomas: data de início, pesquisa em comunicantes, epidemiologia, etc.
Obs4: Anexar laudo para solicitação/autorização de procedimento ambulatorial para confirmatório de HCV (hepatite C).

**ANEXO C: FLUXO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES-
LACEN/GO** (testes realizados no período de viremia: Isolamento Viral, NS1Ag e RT-PCR)

Paciente com quadro clínico que atenda às definições de caso suspeito de infecção por: Dengue, Zika, Chikungunya, Mayaro ou Febre Amarela.

AMOSTRAS

Paciente com até 05 dias de sintomas (SORO e/ou outros líquidos corporais)
Pacientes com até 08 dias de sintomas (URINA – pesquisa Zika)

Observação: todas as amostras deverão ser coletadas preferencialmente até o 3º dia

Isolamento Viral
(Dengue e Febre Amarela)

RT-PCR
(Dengue, Zika, Chikungunya, Mayaro e Febre Amarela)

02 amostras de soro:
- NS1Ag / RT-PCR
01 amostra de sangue total:
- isolamento viral

01 amostra de soro: amostra prioritária
Amostras de outros líquidos corporais: **Urina, LCR, Derrames cavitários e outros.**

CONSERVAÇÃO

Botijão de nitrogênio com no mínimo 12cm de altura
(se não houver o botijão a amostra pode ser refrigerada 2°C a 8°C por no máximo 48h)

ENVIO AO LACEN

- Amostras
- Fichas de notificação
- Fichas de cadastro no GAL
- Lista de exames encaminhados para a rede de laboratórios (GAL)

Resultado NS1Ag
Liberação em 07 dias

Resultado RT-PCR
Liberação em 21 dias

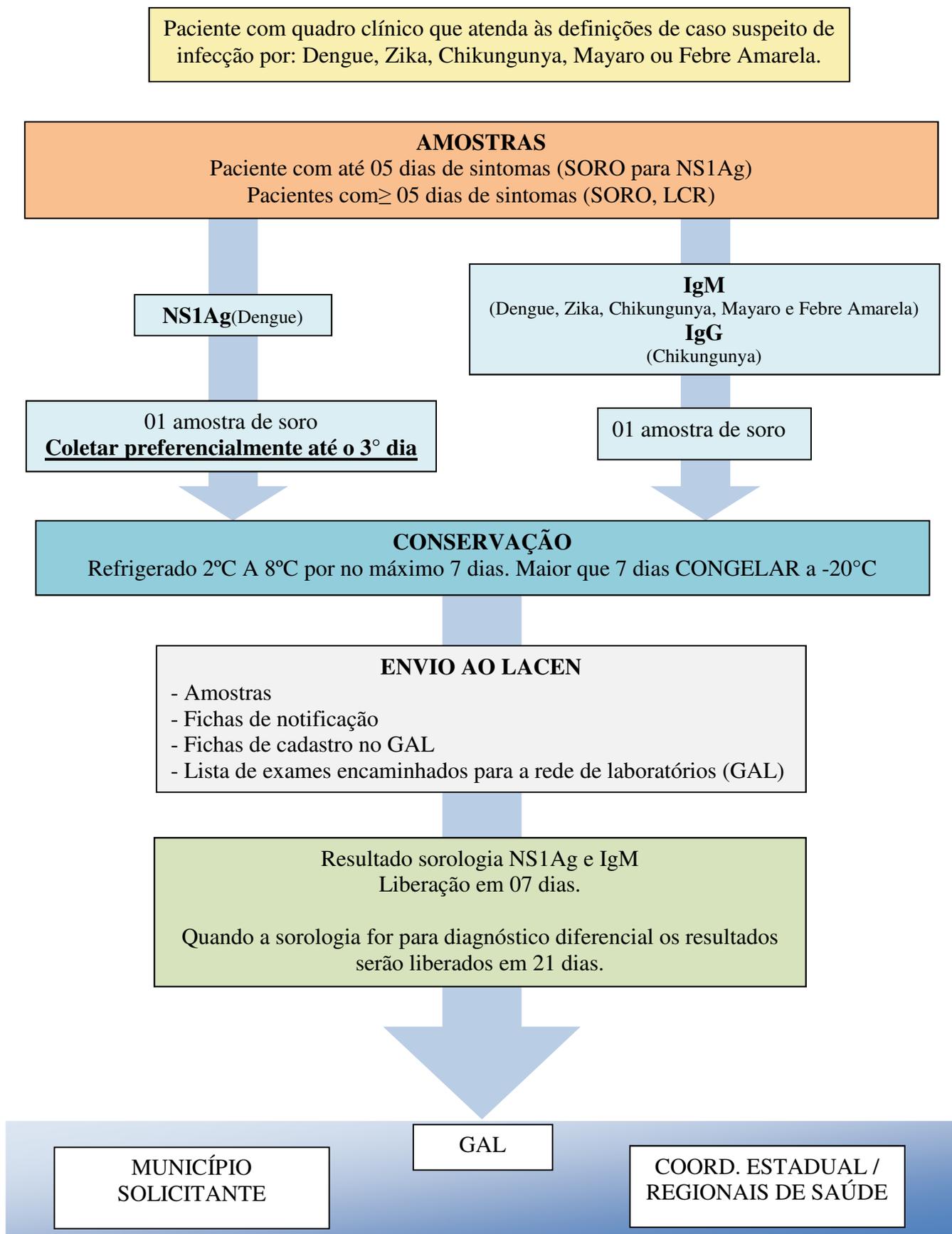
Resultado Isolamento Viral
Liberação em 30 dias

MUNICÍPIO
SOLICITANTE

GAL

COORD. ESTADUAL /
REGIONAIS DE SAÚDE

**ANEXO D: FLUXO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES-
LACEN/GO (testes sorológicos: NS1Ag, IgM e IgG)**



ANEXO E: FLUXO DE INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE INFEÇÃO POR ARBOVÍRUS - LACEN/GO

