

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



**Goiânia-GO  
2024**

## **Coordenação de Biologia Médica**

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

**63.2100-07**

Revisão 01  
Nov/2024

**GOVERNADOR DO ESTADO DE GOIÁS**  
Ronaldo Ramos Caiado

**SECRETÁRIO DE ESTADO DA SAÚDE**  
Rasível dos Reis Santos Jr

**SUPERINTENDENTE DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE**  
Flúvia Pereira Amorim da Silva

**LABORATÓRIO ESTADUAL DE SAÚDE PÚBLICA DR. GIOVANNI CYSNEIROS**

**DIRETORIA GERAL**  
Vinicius Lemes da Silva

**DIRETORIA ADMINISTRATIVA**  
Rafael Souza Guedes

**DIRETORIA TÉCNICA**  
Luiz Augusto Pereira

**COORDENAÇÃO DE BIOLOGIA MÉDICA**  
Robmary Matias de Almeida

**Elaborado por:**

Yulla Fernandes dos Passos Chaves  
Ana Flávia Mendonça

**Verificado por:**

Yulla Fernandes dos Passos Chaves  
Tatiane Cinquini Moraes  
Márcia Tomaz Freire  
Janaína Queiroz da Silva  
Ana Flávia Mendonça

**Aprovado por:**

Robmary Matias de Almeida  
Luiz Augusto Pereira  
Vinícius Lemes da Silva

## MISSÃO

Participar das ações de vigilância em saúde, realizando análises laboratoriais com qualidade, coordenando a rede estadual de laboratórios e gerando informações para a melhoria da saúde pública.

## VISÃO

Excelência da qualidade na descoberta e controle dos agravos em saúde pública visando à satisfação na comunidade.

## VALORES

**Compromisso com o trabalho seguro:** trabalhar com segurança e responsabilidade objetivando a prevenção de acidentes e doenças decorrentes do trabalho.

**Satisfação dos clientes:** busca atender as expectativas dos clientes internos e externos.

**Aprimoramento contínuo:** colaboradores e unidade buscando a excelência profissional.

**Compromisso com o SUS:** respeitar e cooperar para o pleno funcionamento do sistema, considerando seus princípios: universalidade, integralidade, equidade, descentralização, regionalização, hierarquização e da participação popular.

**Responsabilidade social:** cumprir os deveres e obrigações dos indivíduos e empresa para com a sociedade em geral.

**Ética:** Conhecer os limites. Conhecer onde termina o seu direito e inicia o do outro. Conjunto de valores que devem orientar a vida do profissional e a do cidadão.



## SUMÁRIO

|   |           |
|---|-----------|
| <b>1. APRESENTAÇÃO .....</b>  | <b>07</b> |
| <b>2. GESTÃO DA QUALIDADE E BIOSSEGURANÇA.....</b>  | <b>08</b> |
| <b>3. LOCALIZAÇÃO .....</b>   | <b>08</b> |
| <b>4. CANAIS PARA MANIFESTAÇÃO DE CLIENTES .....</b>  | <b>08</b> |
| <b>5. HORÁRIO DE ATENDIMENTO .....</b>  | <b>09</b> |
| <b>6. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES NO LACEN-GO .....</b>                              | <b>10</b> |
| <b>7. MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DAS ARBOVIROSES .....</b>                                      | <b>11</b> |
| <b>8. DENGUE.....</b>   | <b>13</b> |
| <b>9. ZIKA.....</b>   | <b>21</b> |
| <b>10. CHIKUNGUNYA .....</b>  | <b>26</b> |
| <b>11. MAYARO .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>12. OROPOUCHE.....</b>   | <b>34</b> |
| <b>13. FEBRE AMARELA .....</b>  | <b>39</b> |
| <b>14. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE<br/>INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS .....</b> | <b>46</b> |
| <b>15. MANUSEIO DO BOTIJÃO DE NITROGÊNIO .....</b>  | <b>49</b> |
| <b>16. REFERÊNCIAS.....</b>   | <b>52</b> |
| <b>17. ANEXOS .....</b>   | <b>53</b> |

## 1. APRESENTAÇÃO

O Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros/LACEN-GO foi criado pela Lei n.º 27 de 29 de novembro de 1947, está vinculado à Secretaria do Estado da Saúde de Goiás (SES-GO) e é parte integrante do Sistema Nacional de Laboratórios de Saúde Pública (SISLAB), regulamentado pela Portaria de Consolidação n.º 4 de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde. Segundo esse instrumento, os Laboratórios Centrais são os Laboratórios de Referência Estaduais e têm as seguintes competências:

- a) coordenar a rede de laboratórios públicos e privados que realizam análises de interesse em saúde pública;
- b) encaminhar ao Laboratório de Referência amostras inconclusivas para a complementação de diagnóstico e aquelas destinadas ao controle de qualidade;
- c) realizar o controle de qualidade da rede estadual;
- d) realizar procedimentos laboratoriais de maior complexidade para complementação de diagnóstico;
- e) habilitar, observada a legislação específica a ser definida pelos gestores nacionais das redes, os laboratórios que serão integrados à rede estadual, informando ao gestor nacional respectivo;
- f) promover a capacitação de recursos humanos da rede de laboratórios;
- g) disponibilizar aos gestores nacionais as informações relativas às atividades laboratoriais realizadas por intermédio do encaminhamento de relatórios periódicos, obedecendo cronograma definido.

As atividades realizadas pelo LACEN-GO compreendem:

**Coordenação de Biologia Médica:** diagnósticos laboratoriais de doenças e/ou agravos de notificação compulsória, considerados estratégicos para Vigilância em Saúde; controle de qualidade dos diagnósticos laboratoriais descentralizados pela Rede Estadual de Laboratórios/REDELAB; monitoramentos entomológicos para predição de riscos e prevenção da ocorrência de doenças transmitidas por vetores, hospedeiros, reservatórios e animais peçonhentos; atuação em parceria com os Núcleos de Vigilância Epidemiológica das Secretarias Municipais de Saúde e com os Núcleos de Vigilâncias Hospitalares das unidades de saúde de todo o Estado.

**Coordenação de Produtos e Ambiente:** controle sanitário de produtos, realizando análises de caráter fiscal ou de orientação, por meio de ensaios microbiológicos, microscópicos, físico-químicos e de rotulagem de alimentos, medicamentos, saneantes, cosméticos, água de hemodiálise dentre outros produtos para saúde; análises para elucidação de surtos de toxinfecções alimentares, monitoramento da qualidade da água de consumo humano e ambiental. Para isso, recebe amostras das regionais de saúde de todo o Estado, de prefeituras municipais, da rede hospitalar, da Vigilância Sanitária Estadual e do SUS.

## 2. GESTÃO DA QUALIDADE E BIOSSEGURANÇA

O Sistema de Gestão da Qualidade do LACEN-GO abrange integralmente todas as suas atividades e tem como objetivo a competência técnica na realização de ensaios, possibilitando a produção de resultados válidos. O SGQ está organizado em conformidade com:

- a) ABNT NBR ISO/IEC 17025/2017 – Requisitos Gerais para a Competência de Laboratórios de Ensaio e Calibração;
- b) Boas Práticas da OMS para Laboratórios Nacionais de Controle Farmacêutico – Relatório 44 Anexo 1;
- c) ABNT NBR ISO 15189/2015 – Laboratórios Clínicos – Requisitos de Qualidade e Competência.

A Biossegurança é um conjunto de ações voltadas para a prevenção, minimização ou eliminação de riscos inerentes às atividades de pesquisa, produção, ensino, desenvolvimento tecnológico e prestação de serviços que podem comprometer a saúde do homem, dos animais, do meio ambiente e a qualidade dos trabalhos desenvolvidos.

## 3. LOCALIZAÇÃO

Avenida Contorno nº 3556 Jardim Bela Vista. Goiânia–GO. CEP 74853-120.

## 4. CANAIS PARA MANIFESTAÇÃO DOS CLIENTES

**Direção:** (62) 3201-3890

**Rede Estadual de Laboratórios:** (62) 3201-3886

**Coordenação de Biologia Médica:** (62) 3201-3880

**Gerenciamento de Amostras Biológicas:** (62) 3201-9625

**Coordenação do Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL):** (62) 3201-9673

**E-mails:**

**Diretor Geral:** lacengo.dirgeral@gmail.com; lacen.dirgeral.saude@goias.gov.br

**Coordenação de Biológica Médica:** lacen.bmedica@gmail.com;

lacenbmedica.saude@goias.gov.br



**Contatos das seções:**

| <b>SEÇÃO/COORDENAÇÃO</b>   | <b>TELEFONE</b> | <b>E-MAIL</b>  |
|--|-----------------|--|
| Biologia Molecular<br>Ana Flávia Mendonça                              | (62) 3201-9688  | lacen.bmolecular@gmail.com<br>lacenbiomol.saude@goias.gov.br |
| Virologia<br>Yulla Fernandes dos Passos Chaves                         | (62) 3201-9683  | lacen.viro@gmail.com<br>lacenviro.saude@goias.gov.br         |
| Rede Estadual de Laboratórios<br>Ana Clara Amorim e/ou Maurício        | (62) 3201-3886  | lacenredelab.saude@goias.gov.br<br>lacen.redelab@gmail.com   |
| Gerenciador de Ambiente Laboratorial<br>(GAL): Wesley Lopes e/ou Edson | (62) 3201-9673  | lacengal.saude@goias.gov.br                                  |

**5. HORÁRIO DE ATENDIMENTO**

Segunda a sexta – 07h às 16h – Recebimento de amostras.

Plantão final de semana e feriados – 08h às 16h – Recebimento de amostras.

Dúvidas sobre os agravos, entrar em contato nas seções – 07h às 18h.

## 6. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES NO LACEN-GO

O Laboratório Estadual de Saúde Pública Dr. Giovanni Cysneiros (LACEN-GO) realiza o diagnóstico laboratorial das principais arboviroses de interesse em saúde pública, sendo elas infecções causadas pelos vírus: Zika (ZIKV), Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV), Mayaro (MAYV), Oropouche (OROV) e Febre amarela (YFV). Os métodos disponíveis para o diagnóstico das arboviroses em ambiente laboratorial incluem:

- Enzimaimunoensaio (ELISA) - pesquisa de anticorpos IgM, pesquisa de anticorpos IgG, pesquisa do antígeno NS1;
- Isolamento viral – pesquisa do vírus;
- RT-PCR em tempo real – pesquisa do genoma viral.

Em casos de óbito, é realizado ainda o teste anatomopatológico (imunohistoquímica e histopatológico) no Laboratório de Referência Nacional de Arbovírus do Instituto Evandro Chagas (IEC-PA).

O Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL) é o sistema informatizado utilizado desde o cadastro do exame, que deve ser realizado pela unidade solicitante, até a liberação dos resultados, que são disponibilizados pelo LACEN-GO. O sistema GAL está implantado em todos os municípios e Regionais de Saúde do Estado, o que garante a todos os solicitantes, o acesso aos resultados laboratoriais de forma oportuna.

Nota:

Os resultados dos exames realizados no Laboratório de Referência Nacional de Arbovírus são igualmente disponibilizados no GAL.

## 7. MONITORAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DAS ARBOVIROSES

As arboviroses são um dos principais problemas de saúde pública no Brasil em razão de epidemias recorrentes e do aumento de casos graves e óbitos.

Considerando o cenário epidemiológico apresentado pelas arboviroses, onde a alternância dos sorotipos de dengue e a introdução/reintrodução/predominância dos arbovírus estão relacionadas à ocorrência de epidemias, faz-se necessário o monitoramento permanente da circulação destes vírus.

A circulação simultânea das intituladas arboviroses urbanas (zika, dengue e chikungunya) e a crescente detecção do vírus oropouche em alguns estados do país, levou o LACEN-GO a ampliar seu escopo de testagem para o diagnóstico das arboviroses.

Neste sentido, amostras recebidas no LACEN-GO, que atendam aos critérios estabelecidos para o monitoramento de arbovírus são testadas, simultaneamente, utilizando técnica de biologia molecular, para os vírus zika, dengue (1-4) e chikungunya – **Pesquisa Arbovírus (ZDC) - RT-PCR em tempo real**. Aquelas com resultado não detectável são em seguida testadas para os vírus mayaro e oropouche, ficando a inclusão destes exames a cargo do LACEN-GO.

Esta proposta tem por objetivo fortalecer o monitoramento epidemiológico dos arbovírus citados e reduzir a magnitude, a gravidade e a mortalidade causados pela circulação simultânea ou entrada de novos sorotipos no Estado de Goiás.

São elegíveis para o monitoramento epidemiológico das arboviroses, amostras coletadas até o 5º (quinto) dia da data de início dos sintomas, preferencialmente no 3º (terceiro) dia. Para isso, todo paciente que atenda às definições de caso suspeito, deve ter a sua amostra coletada no primeiro acesso ao sistema de saúde.

Frente ao exposto, pacientes que procurem a unidade de saúde dentro dos cinco primeiros dias de sintomas, deve ter amostras priorizadas para realização do monitoramento epidemiológico por meio do exame Pesquisa Arbovírus (ZDC) – RT-PCR em tempo real. Para tal, orientamos o envio de uma amostra de SORO **obrigatoriamente** em criotubos (fornecidos pelo LACEN) devidamente identificados. O cadastro no GAL para a amostra de "**SORO**" deverá ser a pesquisa "**PCR-Arbovírus**".

Excepcionalmente, essas amostras poderão ficar refrigeradas entre 2 a 8°C por no máximo 48 horas, podendo ser encaminhadas ao LACEN em caixas térmicas contendo gelo reciclável desde que não ultrapasse este tempo e seja garantida a

manutenção da amostra na referida temperatura. É obrigatório registrar o horário e data de coleta da amostra. Para um período superior às 48 horas as amostras devem ser armazenadas/transportadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.

As solicitações de criotubos para o monitoramento epidemiológico das arboviroses devem ser realizadas via Regionais de Saúde à Coordenação da Rede Estadual de Laboratórios ([lacenredelab.saude@goias.gov.br](mailto:lacenredelab.saude@goias.gov.br) /[lacen.redelab@gmail.com](mailto:lacen.redelab@gmail.com)).

**Quadro 1** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para o monitoramento epidemiológico das arboviroses.

| Exame                           | Amostra           | Período para coleta                                    | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|---------------------------------|-------------------|--|---------------------------------|---|---|
| <b>Pesquisa Arbovírus (ZDC)</b> | <b>Soro (2mL)</b> | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia) | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

## 8. DENGUE

O diagnóstico laboratorial da infecção pelos vírus dengue (1-4) pode ser realizado por métodos sorológicos (pesquisa de anticorpos IgM e pesquisa do antígeno NS1), por métodos virológicos (isolamento viral e RT-PCR em tempo real) e por exames anatomopatológicos (imunohistoquímica e histopatológico).

### 8.1 – Pesquisa do Antígeno NS1 (NS1Ag) para dengue

A pesquisa do NS1Ag é realizada em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas**.

#### 8.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** - Coletar 10 ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4 ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente, essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

A amostra deverá **obrigatoriamente** estar acompanhada de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 2** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa do antígeno NS1 para dengue.

| Exame                            | Amostra    | Período para coleta                                    | Acondicionamento  | Armazenamento  | Transporte  |
|----------------------------------|------------|--|---|--|---|
| Dengue, Detecção de Antígeno NS1 | Soro (2mL) | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia) | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável |

Nota:

Em caso de um aumento excessivo do número de amostras recebidas pelo LACEN-GO, que ultrapasse sua capacidade de testagem, poderá ser estipulado, a partir de comunicado emitido pela unidade, um quantitativo máximo de amostras a ser enviado por município.

## 8.2 – Pesquisa de anticorpos IgM para dengue

A pesquisa de anticorpos IgM para dengue é realizada em amostras de pacientes com **5 a 60 dias de sintomas**.

### 8.2.1 – Envio de amostras no período epidêmico e não epidêmico da dengue

Durante o período epidêmico, a coleta deve seguir os seguintes critérios:

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

Durante o período não epidêmicos, a coleta deve seguir os seguintes critérios:

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

Nota:

Em caso de um aumento excessivo do número de amostras recebidas pelo LACEN-GO, que ultrapasse sua capacidade de testagem, poderá ser estipulado, a partir de comunicado emitido pela unidade, um quantitativo máximo de amostras a ser enviado por município.

### 8.2.2 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com **5 a 60 dias de sintomas**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente, essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhada de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 3** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos IgM para dengue.

| Exame       | Amostra      | Período para coleta   | Acondicionamento                                       | Armazenamento  | Transporte  |
|-------------|--------------|---|--|--|---|
| Dengue, IgM | Soro (2mL)   | 5 ao 60º dia de sintomas  | Tubo primário ou plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável   |
|             | Líquor (1mL) | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>                            | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

### 8.2.3 – Avaliação da Qualidade do Diagnóstico de 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.

O quantitativo de amostras que deverão ser enviadas ao LACEN-GO para “Avaliação da Qualidade do Diagnóstico de Dengue (AQDD)” deverá ser:

- Período Epidêmico – enviar 3% das amostras testadas (2% das amostras negativas e 1% das amostras positivas).
- 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 em caixa térmica com gelo reciclável e enviadas com o formulário próprio, corretamente preenchido (ANEXO A), **pelo menos a cada dois meses**. Enviar uma alíquota ao LACEN-GO e manter outra alíquota estocada no laboratório de origem.

As amostras serão testadas com o mesmo kit utilizado no laboratório solicitante. Será avaliada a concordância entre os resultados obtidos no laboratório solicitante e



os resultados do LACEN-GO. O relatório da avaliação final e o certificado de concordância serão repassados via SEI à regional de saúde da abrangência do município e por e-mail ao laboratório do município solicitante.

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

### 8.3 – Isolamento viral para dengue

O isolamento viral para dengue é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas**.

O isolamento viral será realizado para todos os casos de óbitos e nos casos de envio de amostra única de sangue total.

#### 8.3.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Sangue total** – coletar 2ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. A amostra deve ser acondicionada, **obrigatoriamente**, em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenada em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhada de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Quadro 4 –** Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para isolamento viral do vírus dengue.

| Exame            | Amostra   | Período para coleta                                    | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|------------------|---|--|---------------------------------|---|---|
| Isolamento viral | Sangue total (2mL)  | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia) | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                  | <b>Fragments de Vísceras</b> (1cm <sup>3</sup> )<br><br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. | Até 48h após o óbito                                   | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

*As amostras para isolamento viral poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.*

#### 8.4 – RT-qPCR para Dengue

O RT-qPCR para dengue é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas.**

##### 8.4.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – Coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de

pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

As amostras deverão **obrigatoriamente** ser acondicionadas em tubos plásticos, com tampa de rosca, resistentes a baixas temperaturas (criotubos) **fornecidos pelo LACEN-GO**. A identificação deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser

idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Quadro 5** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular de dengue por RT-qPCR.

| Exame                             | Amostra   | Período para coleta   | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|-----------------------------------|---|---|---------------------------------|---|---|
| <b>Dengue, Biologia Molecular</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)  | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia)                                | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                                   | <b>Líquor</b><br>(1mL)  | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                                   | <b>Fragmento de Visceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br><br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. | Até 48h após o óbito  | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                                   | <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico.                                     | Logo após o óbito (ideal em até 8h)   | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

*As amostras para o diagnóstico molecular (RT-PCR) poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.*

## 9. ZIKA

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus zika pode ser realizado por métodos sorológicos (pesquisa de anticorpos IgM e IgG), por métodos virológicos (RT-PCR em tempo real) e por exames anatomopatológicos (imunohistoquímica e histopatológico).

### 9.1 – Pesquisa de anticorpos IgM e IgG para zika

A pesquisa de anticorpos IgM para zika é realizada em amostras de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**.

A pesquisa de anticorpos IgG para zika é realizada apenas para gestantes com feto microcefálico, recém-nascido com microcefalia e mãe de recém-nascido com microcefalia.

#### 9.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 6 –** Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos Zika IgM e Zika, IgG.

| Exame     | Amostra      | Período para coleta   | Acondicionamento  | Armazenamento  | Transporte  |
|-----------|--------------|---|---|--|---|
| Zika, IgM | Soro (2mL)   | 5 ao 90º dia de sintomas. (preferência entre o 7º e 45º dia)  | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada. | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável.  |
|           | Líquor (1mL) | Em caso de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i>                                  | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                             | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
| Zika, IgG | Soro (2mL)   | Em casos de gestantes com feto microcefálico, recém-nascido com microcefalia e mãe de recém-nascido com microcefalia. | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada. | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável.  |

## 9.2 – RT-qPCR para Zika

O RT-qPCR para zika é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas.**

### 9.2.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar

imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

**Urina** – coletar 3mL de urina em tubo cônico tipo Falcon ou em criotubo (3 tubos com 1mL em cada) de pacientes com **até 14 dias** do início dos sintomas. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Sangue do cordão umbilical** – coletar o sangue no momento do parto e priorizar a separação do soro. Separar o soro realizando a retração do coágulo em tempo mínimo possível. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Urina (neonato)** – proceder a coleta por conveniência em Coletor infantil e encaminhar alíquota de no mínimo 1mL em criotubo ou de no mínimo 3mL em tubo cônico tipo Falcon. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Placenta e anexos fetais (disco placentário e cordão umbilical)** – coletar fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup> no momento do parto. Acondicionar em criotubos (fornecidos pelo LACEN) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente

em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

As amostras **obrigatoriamente** deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos) **fornecidos pelo LACEN-GO**, com tampa de rosca.

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.



**Quadro 7 – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular de zika por RT-qpcr.**

| Exame                                   | Amostra  | Período para coleta   | Acondicionamento                                       | Armazenamento   | Transporte  |
|---|--|---|--|---|---|
| <b>Zika,<br/>Biologia<br/>Molecular</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia)                            | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Líquor</b><br>(1mL)   | Em casos de complicações neurológicas<br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Urina</b><br>(3mL)  | Até o 14º dia de sintomas   | Tubo tipo Falcon ou criotubo (3 tubos com 1mL em cada) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Placenta e anexos fetais</b><br>(disco placentário e cordão umbilical).                                       | Momento do parto  | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Fragmentos de Vísceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. | Até 48h após o óbito  | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

| Exame | Amostra   | Período para coleta                    | Acondicionamento                   | Armazenamento  | Transporte  |
|-------|---|--|------------------------------------|--|---|
|       | <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico. | Logo após o óbito<br>(ideal em até 8h) | Criotubo<br>(fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C<br>(refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

*As amostras para o diagnóstico molecular (RT-PCR) poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.*

## 10. CHIKUNGUNYA

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus chikungunya pode ser realizado por métodos sorológicos (pesquisa de anticorpos IgM e IgG), por métodos virológicos (isolamento viral e RT-PCR em tempo real) e por exames anatomopatológicos (imunohistoquímica e histopatológico).

O isolamento viral para chikungunya é realizado pelo LACEN como diagnóstico diferencial de dengue, não sendo necessário o cadastro pela unidade solicitante.

### 10.1 – Pesquisa de anticorpos IgM e IgG para chikungunya

A pesquisa de anticorpos IgM para chikungunya é realizada em amostras de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**.

A pesquisa de anticorpos IgG para chikungunya poderá ser realizada em amostras coletadas **a partir do 15º dia de sintomas** após avaliação dos critérios clínicos e epidemiológicos.

#### 10.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a

amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 8** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos Chikungunya IgM e IgG.

| Exame                   | Amostra           | Período para coleta       | Acondicionamento  | Armazenamento  | Transporte   |
|-------------------------|-------------------|---------------------------|---|--|--|
| <b>Chikungunya, IgM</b> | <b>Soro (2mL)</b> | 5° ao 60° dia de sintomas | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u><br>Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável |

| Exame                  | Amostra                | Período para coleta   | Acondicionamento  | Armazenamento  | Transporte  |
|------------------------|------------------------|---|---|--|---|
|                        | <b>Líquor</b><br>(1mL) | Em casos de complicações neurológicas<br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i>   | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                             | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>                                | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
| <b>Chikungunya IgG</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | A partir do 15º dia de sintomas em amostras IgM negativo.<br>Será realizado após avaliação dos critérios epidemiológicos. | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u><br>Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável  |

## 10.2 – RT-qPCR para chikungunya

O RT-qPCR para chikungunya é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas.**

### 10.2.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

As amostras **obrigatoriamente** deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos) **fornecidos pelo LACEN-GO**, com tampa de rosca.

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.

**Quadro 9** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular de chikungunya por RT-qPCR.

| Exame   | Amostra  | Período para coleta   | Acondicionamento  | Armazenamento   | Transporte  |
|---|--|---|---|---|---|
| <b>Chikungunya, Biologia Molecular</b>  | <b>Soro</b><br>(2mL)   | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia)                            | Criotubo (fornecido pelo LACEN)   | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>         | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Líquor</b><br>(1mL)   | Em casos de complicações neurológicas<br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN)   | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>         | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Fragmentos de Visceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. | Até 48h após o óbito  | Criotubo (fornecido pelo LACEN)   | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>         | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
| <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico. | Logo após o óbito (ideal em até 8h)  | Criotubo (fornecido pelo LACEN)   | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |   |

*As amostras para o diagnóstico molecular (RT-PCR) poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.*

## 11. MAYARO

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus mayaro pode ser realizado por métodos sorológicos (pesquisa de IgM) e por métodos virológicos (isolamento viral e RT-PCR).

O isolamento viral para mayaro é realizado pelo LACEN como diagnóstico diferencial de dengue, não sendo necessário o cadastro pela unidade solicitante.

### 11.1 – Pesquisa de anticorpos IgM para mayaro

A pesquisa de anticorpos IgM para mayaro é realizada em amostras de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**.

#### 11.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com **5 a 90 dias de sintomas**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (forecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 10** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos IgM para mayaro.

| Exame              | Amostra                | Período para coleta   | Acondicionamento  | Armazenamento  | Transporte  |
|--------------------|------------------------|---|---|--|---|
| <b>Mayaro, IgM</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | 5 ao 60º dia de sintomas  | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável   |
|                    | <b>Líquor</b><br>(1mL) | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN)                             | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b>                                | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

## 11.2 – RT-qPCR para Mayaro

O RT-qPCR para mayaro é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas.**

### 11.2.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar assepticamente 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com até 5 dias do início dos sintomas, preferencialmente no 3º dia. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.



**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

As amostras **obrigatoriamente** deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos) **fornecidos pelo LACEN-GO**, com tampa de rosca.

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.

**Quadro 11** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular por RT-qPCR para mayaro.

| Exame                                     | Amostra  | Período para coleta   | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|---|--|---|---------------------------------|---|---|
| <b>Mayaro,<br/>Biologia<br/>Molecular</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia)                                | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Líquor</b><br>(1mL)   | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Fragmentos de Vísceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. | Até 48h após o óbito  | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|   | <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico.                                  | Logo após o óbito (ideal em até 8h)   | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

## 12. OROPOUCHE

O diagnóstico laboratorial da infecção pelo vírus oropouche pode ser realizado por métodos sorológicos (pesquisa de IgM) e por métodos virológicos (RT-PCR em tempo real).

## 12.1 – Pesquisa de anticorpos IgM para Oropouche

A pesquisa de anticorpos IgM para oropouche é realizada em amostras de pacientes **após 5 dias do início dos sintomas.**

A pesquisa de anticorpos IgM para Oropouche poderá ser realizada mediante avaliação de critérios clínicos e epidemiológicos, após esgotada todas as possibilidades de diagnóstico para os arbovírus de maior ocorrência (Zika, dengue e Chikungunya). A pesquisa de anticorpos IgM para Oropouche será realizada no Laboratório de Referência Nacional (Instituto Evandro Chagas-Pará) em casos de gestantes, anomalias congênitas ou óbitos fetais.

### 12.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – deve-se realizar duas coletas de amostras: a primeira coleta após **5 dias** do início dos sintomas e a segunda coleta **após 15 dias da primeira coleta.** Coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a -20°C. Alternativamente essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a -20°C. Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (forecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 12** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos IgM para Oropouche.

| Exame                     | Amostr<br>a            | Período para<br>coleta  | Acondicionamento   | Armazenamento  | Transporte  |
|---------------------------|------------------------|---|--|--|---|
| <b>Oropouche,<br/>IgM</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | 1ª coleta: após<br>5 dias do início<br>dos sintomas<br><br>2ª coleta: 15<br>dias após a<br>primeira coleta. | Tubo primário ou<br>tubo plástico,<br>estéril, com tampa<br>de rosca | -20°C (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar)<br>por <b>até 7 dias</b> , após<br>esse período a<br>amostra deve ser<br>congelada (-20°C). | <u>Ideal:</u> Enviar<br>em até 7 dias<br><br>Caixa térmica<br>com gelo<br>reciclável  |
|                           | <b>Líquor</b><br>(1mL) | Em casos de<br>complicações<br>neurológicas<br><br>Óbito: em até 8<br>horas <i>post</i><br><i>mortem</i>    | Criotubo<br>(fornecido pelo<br>LACEN)                                | Botijão de<br>Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar)<br>até envio ao<br>LACEN-GO –<br><b>máximo 48h.</b>                                | Botijão de<br>Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica<br>com gelo<br>reciclável para<br>amostras<br>armazenadas de<br>2 a 8°C. |

## 12.2 – RT-qPCR para Oropouche

O RT-qPCR para oropouche é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas**.

### 12.2.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 5 dias** de sintomas, **preferencialmente no 3º dia**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar 1mL de líquor e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

**Sangue do cordão umbilical** – coletar o sangue no momento do parto e priorizar a separação do soro. Separar o soro realizando a retração do coágulo em tempo mínimo possível. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Placenta e anexos fetais (disco placentário e cordão umbilical)** – coletar fragmentos de aproximadamente 1cm<sup>3</sup> no momento do parto. Acondicionar em criotubos (fornecidos pelo LACEN) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o

nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

As amostras **obrigatoriamente** deverão ser acondicionadas em tubos plásticos resistente a baixas temperaturas (criotubos) **fornecidos pelo LACEN-GO**, com tampa de rosca.

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.

**Quadro 13** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular por RT-qPCR de oropouche.

| Exame                                | Amostra  | Período para coleta   | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|--------------------------------------|--|---|---------------------------------|---|---|
| <b>Oropouche, Biologia Molecular</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)   | Até o 5º dia de sintomas (preferencialmente no 3º dia)                                | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                                      | <b>Líquor</b><br>(1mL)   | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|                                      | <b>Placenta e anexos fetais</b><br>(disco placentário e cordão umbilical). | Momento do parto  | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

| Exame | Amostra  | Período para coleta                 | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|-------|--|-------------------------------------|---------------------------------|---|---|
|       | <b>Fragmentos de Vísceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. | Até 48h após o óbito                | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|       | <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico.                                  | Logo após o óbito (ideal em até 8h) | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

*As amostras para o diagnóstico molecular (RT-PCR) poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.*

### 13. FEBRE AMARELA

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

#### 13.1 – Pesquisa de anticorpos IgM para febre amarela

A pesquisa de anticorpos IgM para febre amarela é realizada em amostras de pacientes **de 5 até 30 dias após o início dos sintomas**.

##### 13.1.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com **5 a 30 dias de sintomas**. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Encaminhar o tubo primário ou transferir de 2 a 4ml de

soro para tubo plástico, estéril, com tampa de rosca, devidamente identificado e conservar em freezer a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Alternativamente essa amostra poderá ficar armazenada sob refrigeração ( $2$  a  $8^{\circ}\text{C}$ ) por no máximo 7 dias. Após este período a amostra deverá ser **obrigatoriamente** armazenada a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Transportá-la em caixa térmica com gelo reciclável em quantidade suficiente para manter a temperatura adequada. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia.

**Líquor** – coletar pelo menos 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração ( $2$  a  $8^{\circ}\text{C}$ ), **por no máximo 48h**, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

A identificação do tubo deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Para assegurar a qualidade das amostras e garantir um diagnóstico em tempo hábil é necessário enviar as amostras ao LACEN-GO em no máximo 15 dias após a coleta (não estocar amostras).**

**Quadro 14** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para a pesquisa de anticorpos IgM para febre amarela.

| Exame                     | Amostra           | Período para coleta       | Acondicionamento  | Armazenamento   | Transporte  |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|---|---|---|
| <b>Febre Amarela, IgM</b> | <b>Soro (2mL)</b> | 5° ao 30° dia de sintomas | Tubo primário ou tubo plástico, estéril, com tampa de rosca | $-20^{\circ}\text{C}$ (freezer)<br><br><u>Alternativa:</u><br>$2$ a $8^{\circ}\text{C}$<br>(refrigerar) por <b>até 7 dias</b> , após esse período a amostra deve ser congelada ( $-20^{\circ}\text{C}$ ). | <u>Ideal:</u> Enviar em até 7 dias<br><br>Caixa térmica com gelo reciclável |



| Exame | Amostra      | Período para coleta   | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|-------|--------------|---|---------------------------------|---|---|
|       | Líquor (1mL) | Em casos de complicações neurológicas<br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

### 13.2 – Teste de isolamento viral para febre amarela

O isolamento viral para febre amarela é realizado em amostras de pacientes **com até 5 dias de sintomas.**

#### 13.2.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Sangue total** – coletar 2ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes com até 5 dias de sintomas, preferencialmente no 3º dia. A amostra deve ser acondicionada, obrigatoriamente, em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenada em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 48h, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h,** até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta, data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser

idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Quadro 15** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para isolamento viral de febre amarela.

| Exame            | Amostra                | Período para coleta  | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|------------------|------------------------|--|---------------------------------|---|---|
| Isolamento viral | Sangue total (2mL)     | Até 5º dia de sintomas (preferencialmente 3º dia)  | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Gelo reciclável em caixa térmica para amostras armazenadas 2 a 8°C. |
|                  | Fragmentos de Vísceras | Logo após o óbito (máximo de 48h)<br><br>(1cm <sup>3</sup> de amostras <i>in-natura</i> acondicionadas em criotubos) | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Gelo reciclável em caixa térmica para amostras armazenadas 2 a 8°C. |

*As amostras para isolamento viral poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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.*

### 13.3 – RT-qPCR para febre amarela

O RT-qPCR para febre amarela é realizado em amostras de pacientes **com até 10 dias de sintomas.**

#### 13.3.1 – Coleta, identificação, acondicionamento e transporte das amostras

**Soro** - coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante, de pacientes **com até 10 dias** de sintomas. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com

nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Líquor** – coletar 1mL de líquido e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

**Urina** – proceder a coleta até o 15º dia do início dos sintomas e encaminhar alíquota de no mínimo 1mL em tubo plástico resistente a baixas temperaturas (criotubos) com tampa de rosca, fornecidos pelo LACEN-GO ou no mínimo 3mL de urina em tubo cônico tipo Falcon. As amostras de urina devem ser devidamente identificadas e armazenadas imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

**Derrames cavitários** – logo após o óbito (ideal em até 8h), coletar 2mL de cada um dos seguintes líquidos: ascítico, pleural e, eventualmente, pericárdico. Acondicionar individualmente em criotubos (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até serem transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhadas para o LACEN-GO.

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas de ficha de

investigação/notificação devidamente preenchida e legível, sendo imprescindível o nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, **data da coleta**, **data do início de sintoma** e ficha de cadastro no GAL.

**ATENÇÃO:** As informações fornecidas durante o cadastro do GAL devem ser idênticas àquelas contidas na ficha de investigação/notificação (nome completo do paciente, data de nascimento, tipo de material, data da coleta e data de início do sintoma).

**Quadro 16** – Coleta, acondicionamento, armazenamento e transporte de amostras para diagnóstico molecular por RT-qPCR de febre amarela.

| Exame                                    | Amostra   | Período para coleta   | Acondicionamento                | Armazenamento   | Transporte  |
|--|---|---|---------------------------------|---|---|
| <b>Febre Amarela, Biologia Molecular</b> | <b>Soro</b><br>(2mL)  | Até o 10º dia de sintomas   | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|  | <b>Líquor</b><br>(1mL)  | Em casos de complicações neurológicas<br><br>Óbito: em até 8 horas <i>post mortem</i> | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |
|  | <b>Urina</b>  | Tubo tipo Falcon:<br>3 mL de amostra<br>Criotubo:<br>1 mL de amostra                  | Até o 15º dia de sintomas       | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – máximo 48h.        | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Gelo reciclável em caixa térmica para amostras armazenadas 2 a 8°C.     |
|  | <b>Fragmentos de Vísceras</b><br>(1cm <sup>3</sup> )<br>Fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. | Até 48h após o óbito  | Criotubo (fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C (refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

| Exame | Amostra   | Período para coleta                    | Acondicionamento                   | Armazenamento  | Transporte  |
|-------|---|--|------------------------------------|--|---|
|       | <b>Derrames Cavitários</b><br>(2mL)<br>Líquido ascítico, pleural e pericárdico. | Logo após o óbito<br>(ideal em até 8h) | Criotubo<br>(fornecido pelo LACEN) | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>2 a 8°C<br>(refrigerar) até envio ao LACEN-GO – <b>máximo 48h.</b> | Botijão de Nitrogênio<br><br><u>Alternativa:</u><br>Caixa térmica com gelo reciclável para amostras armazenadas de 2 a 8°C. |

## 14. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS

Nos casos de óbito, deve-se garantir a coleta de todas as amostras possíveis para a investigação laboratorial e confirmação diagnóstica.

As amostras prioritárias são **sangue total, soro, fragmentos de vísceras *in natura* e fragmentos de vísceras no formol**. No entanto, amostras como líquido, líquidos cavitários, e outras, também podem ser coletadas, a critério médico.

Para investigação de óbitos, a coleta deverá ser realizada logo após o óbito (máximo 48 horas).

### 14.1 – Instruções para a coleta de amostras em situação de óbito

**Sangue total (sem anticoagulante)** – coletar 2ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulantes. A amostra deve ser acondicionada, obrigatoriamente, em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenada em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) por no máximo 48h, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Soro (duas amostras de soro)** – coletar 10ml de sangue com seringa ou tubo a vácuo sem anticoagulante. Esperar a retração do coágulo e centrifugar a 4.000 rpm por 5 minutos. Transferir de 2 a 4ml de soro para criotubos (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra poderá ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C) **por no máximo 48h**, até ser transferidas para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO. Não encaminhar amostras de soro que apresentam hemólise ou lipemia. **Nunca deixar estas amostras em temperatura ambiente.**

**Fragmento de víscera *in natura*** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão, coração e linfonodo. Acondicionar individualmente em criotubo (fornecidos pelo LACEN-GO) devidamente identificados e armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essas amostras podem ser armazenadas sob refrigeração (2 a 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.**

**Fragmento de víscera no formol** – logo após o óbito (máximo de 48h), coletar aproximadamente 1 a 3cm<sup>3</sup> de cada uma das seguintes vísceras: fígado, rim, baço, cérebro, pulmão e coração. Acondicionar separadamente (por sítio) em tubos tipo Falcon, preferencialmente de 15ml, devidamente identificados, contendo formol a 10% ou em blocos de parafina. O volume de formol 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, devem ser armazenados e transportados em temperatura ambiente.

**Líquor e líquidos cavitários – pleural, ascítico e pericárdio** – coletar 1mL e acondicionar em criotubo (fornecido pelo LACEN) devidamente identificado. Armazenar imediatamente em botijão com nitrogênio líquido. Alternativamente, essa amostra pode ser armazenada sob refrigeração (2 a 8°C), por no máximo 48h, até ser transferida para o botijão de nitrogênio ou encaminhada para o LACEN-GO.

As amostras de soro, sangue total, vísceras “in natura”, líquido e líquidos cavitários poderão ficar refrigeradas entre 2 a 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 às 48h as amostras devem ser armazenadas obrigatoriamente em botijão de nitrogênio líquido.

Espécimes de qualquer outro órgão, que apresentarem alteração macroscópica, poderão ser encaminhados para investigação laboratorial.

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 outro tubo tipo falcon com formalina contendo outro fragmento de pulmão (armazenado em temperatura ambiente para os exames anatomopatológicos).

A identificação dos tubos deve ser feita de forma legível, com tinta resistente aos meios de conservação, contendo o nome completo do paciente por extenso, a data da coleta, o tipo de amostra e se possível o nome do exame a ser realizado. Não colar a etiqueta de forma que dificulte a abertura do tubo.

As amostras deverão **obrigatoriamente** estar acompanhadas do relatório de verificação de óbito, ficha de investigação/notificação devidamente preenchida e legível, ficha de solicitação de exame anatomopatológico, ficha de cadastro no GAL e lista de exames encaminhados para o LACEN (GAL). Quando disponível, anexar ainda o laudo médico ou histórico do paciente.

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

Para maiores informações, consultar as INSTRUÇÕES PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PELO SERVIÇO DE VERIFICAÇÃO DE ÓBITOS (SVO), disponível no link:

<https://goias.gov.br/saude/lacen/>



## 15. MANUSEIO DO BOTIJÃO DE NITROGÊNIO

O botijão de nitrogênio líquido é um recipiente térmico com isolamento a vácuo para conservar as amostras congeladas a uma temperatura de  $-196^{\circ}\text{C}$  por tempo indeterminado. Para tanto, o botijão deve ser abastecido com nitrogênio líquido periodicamente, de modo a manter um determinado nível mínimo (nunca deixar atingir níveis inferiores a 12cm de nitrogênio líquido).

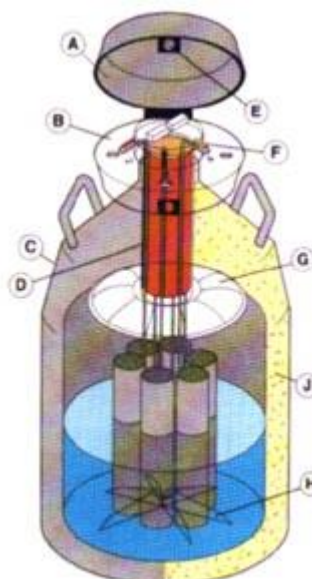
O botijão deve ser manipulado com o máximo cuidado para evitar danos que possam resultar em prejuízos. Para diminuir os riscos com o botijão, é aconselhável a construção de uma caixa de madeira para seu acondicionamento. O botijão não pode sofrer choques (batidas), movimentos bruscos ou tombamento, o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

O nitrogênio líquido evapora constantemente, o técnico deve 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.

- 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



**Figura 1** – Representação esquemática de um botijão de nitrogênio

### **15.1 – Cuidados com o botijão de nitrogênio**

- a) Manter o botijão em ambiente ventilado, seco, ao abrigo de raios solares, fechando-o apenas com sua própria tampa.
- b) Não bater ou tombar, pois pode provocar a perda do vácuo, mesmo sem apresentar danos externos.
- c) O seu conteúdo é líquido e o manuseio incorreto pode causar sérios ferimentos (evite contato com as partes do corpo).
- d) Retirar as racks vazias, para diminuir o consumo de nitrogênio e facilitar seu manejo.
- e) Nunca vedar a tampa para impedir a evaporação do líquido.
- f) Use apenas adesivo para fixar qualquer tipo de identificação.
- g) 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.
- h) 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).
- i) Nunca derrame o líquido em recinto fechado, pois pode provocar asfixia pela redução da quantidade de oxigênio.
- j) Evite o contato direto com o nitrogênio líquido ou peças metálicas que estejam em contato com o líquido.
- k) Movimentá-lo sempre com 2 pessoas.
- l) Medir regularmente o nível de nitrogênio.

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

**O LACEN-GO é responsável pelo abastecimento dos botijões de nitrogênio líquido. Esse procedimento é realizado junto aos representantes das Regionais de Saúde do Estado.**

## 15.2 – Tabela de verificação de nível e peso de nitrogênio líquido

De tempos em tempos os botijões devem ser reabastecidos de nitrogênio. Este tempo de reabastecimento varia de acordo com o grau de uso do botijão, bem como com o tamanho do botijão.

Para que o manipulador tenha uma base da quantidade de litros necessários para o reabastecimento, basta olhar a tabela abaixo e, após medir o nível de nitrogênio restante no botijão, calcular a quantidade em litros que irá necessitar para o completo reabastecimento.

Vale ressaltar que o manipulador deve conhecer o grau de evaporação do seu botijão, por meio de medições periódicas e manter uma rotina de abastecimento.

### VOLUME EXISTENTE (LITROS)

| NÍVEL (CM) | SC 20/20 | XC 33/22 | XC 43/28 | XC 47-11 |
|------------|----------|----------|----------|----------|
|            | SC 20/15 | XC 34/18 |          |          |
|            |          | SC 33/32 |          |          |
|            |          | SC 33/26 |          |          |
| 38,1       | –        | –        | –        | 47,2     |
| 36,8       | –        | –        | –        | –        |
| 35,6       | –        | 34,9     | 42,2     | 45,4     |
| 34,3       | –        | 34,6     | 42,0     | 43,9     |
| 33,0       | 20,7     | 34,0     | 41,3     | 42,2     |
| 30,5       | 19,0     | 31,5     | 38,6     | 38,6     |
| 27,9       | 17,3     | 28,6     | 35,1     | 35,1     |
| 25,9       | 15,6     | 25,8     | 31,6     | 31,6     |
| 22,9       | 13,9     | 23,0     | 28,1     | 28,1     |
| 20,5       | 12,2     | 20,2     | 24,6     | 24,6     |
| 17,8       | 10,5     | 17,4     | 21,1     | 21,1     |
| 15,2       | 8,8      | 14,6     | 17,6     | 17,6     |
| 12,7       | 7,1      | 11,8     | 14,1     | 14,1     |
| 10,2       | 5,4      | 9,0      | 10,6     | 10,6     |
| 7,6        | 3,7      | 6,2      | 7,1      | 7,1      |
| 5,1        | 2,0      | 3,4      | 3,6      | 3,6      |
| 2,54       | 0,6      | 0,9      | 0,9      | 0,9      |

Fonte: Tabela de nível do Nitrogênio fornecida pela M.V.E.  
Tabela de conversão fornecida pela Air Liquid

Também podemos fazer a conversão de litros para quilos ou vice-versa. Para isto basta saber que 1 litro equivale a 0,808 Kg de Nitrogênio. Ou 1 Kg é igual a 1,238 litros de Nitrogênio.

**EXEMPLO:** Se o seu botijão é um SC 20/20 e está com 10,2 cm de Nitrogênio, significa que possui 5,4 litros restantes. Se a capacidade é de 20 litros, faltam aproximadamente 15 litros para completá-lo, ou 12,12 Kg de Nitrogênio (15 X 0,808).

## 16. REFERÊNCIAS

- BRASIL. Programa Nacional de Controle da Dengue – PNCD. Brasília: Ministério da Saúde, 2002.
- BRASIL. Manual de técnicas para o diagnóstico laboratorial de dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.
- BRASIL. Diretrizes Nacionais para Prevenção e Controle de Epidemias de Dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.
- BRASIL. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança. 4. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
- BRASIL. *Guia de Vigilância em Saúde*, 1. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2016.
- BRASIL. Guia para diagnóstico laboratorial em saúde pública: orientações para o sistema nacional de laboratórios de saúde pública. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
- BRASIL. Guia de Vigilância em Saúde. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
- BRASIL. Reunião Nacional de Atualização da Vigilância Epidemiológica da Dengue. Estudo de caso – Aplicação da nova classificação dos casos de dengue. Brasília: Ministério da Saúde, 2013.
- 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 D.J. Detecting artificial anti dengue IgM immune complexes using an enzyme-linked immunosorbent assay. *Am J Trop Med Hyg.* 1987;36:153–9.
- LANCIOTTI R.S; CALISHER C.H; GUBLER D.J; CHANG G.J, VORNDAM A.V. Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 1992;30:545–51.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Dengue: Guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control. New ed., TDR: World Health Organization, Geneva, x, 2009. 147 pp.
- VANZIN, I.M. Inseminação artificial e manejo reprodutivo dos bovinos. Disponível em: [http://www.inseminacaoartificial.com.br/Manejo\\_botijao.htm](http://www.inseminacaoartificial.com.br/Manejo_botijao.htm). Acesso em: 28 mar. 2017.
- BRASIL. Guia de vigilância em saúde: volume 2 [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde e Ambiente. – 6. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2023.

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

Título: AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DO DIAGNÓSTICO DE DENGUE (AQDD)- SOROLOGIA DENGUE IgM

Número:  
SEVIR 51

**1- Identificação da Instituição:**

|                               |                      |
|-------------------------------|----------------------|
| Nome: _____                   |                      |
| Endereço: _____               |                      |
| CEP: _____                    | Cidade/Estado: _____ |
| Telefone: _____               | Celular: ( ) _____   |
| E-mail: _____                 |                      |
| Diretor de Instituição: _____ |                      |

**2- Enzimaimunoensaio (ELISA) Dengue IgM:**

Kit comercial utilizado no município: \_\_\_\_\_

Data da validade do kit: \_\_\_\_\_

Lote: \_\_\_\_\_

Técnico responsável: \_\_\_\_\_

| DATA | NÚMERO DA AMOSTRA | LEITURA DA AMOSTRA (DO) | VALOR DE CORTE (CO) | RESULTADO | RESULTADOS DO LACEN |
|------|-------------------|-------------------------|---------------------|-----------|---------------------|
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |
|      |                   |                         |                     |           |                     |

Kit comercial utilizado no município: \_\_\_\_\_

Data da validade do kit: \_\_\_\_\_

Lote: \_\_\_\_\_

Técnico responsável: \_\_\_\_\_

Desempenho da análise: ( ) SATISFATORIO ( ) INSATISFATORIO ( ) PARCIALMENTE SATISFATORIO

Observações: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

-----  
/ANEXO B

**ANEXO B**

**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, Oropouche ou Febre Amarela.

**AMOSTRAS**

**Paciente com até 05 dias de sintomas (SORO, SANGUE TOTAL e/ou outros líquidos corporais)**  
**Paciente com até 14 dias de sintomas (URINA – pesquisa Zika)**

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

**Isolamento Viral**

(Dengue, Febre Amarela Chikugunya e Mayaro)

**RT-PCR**

(Dengue, Zika, Chikungunya, Mayaro, Oropouche e Febre Amarela)

**02 amostras de soro:**

- NS1Ag (Dengue) / 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

Alternativa:

2 a 8°C (Refrigerar) Máx. 48h até envio ao LACEN-GO.

**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 07 dias

Resultado Isolamento Viral  
Liberação em 30 dias

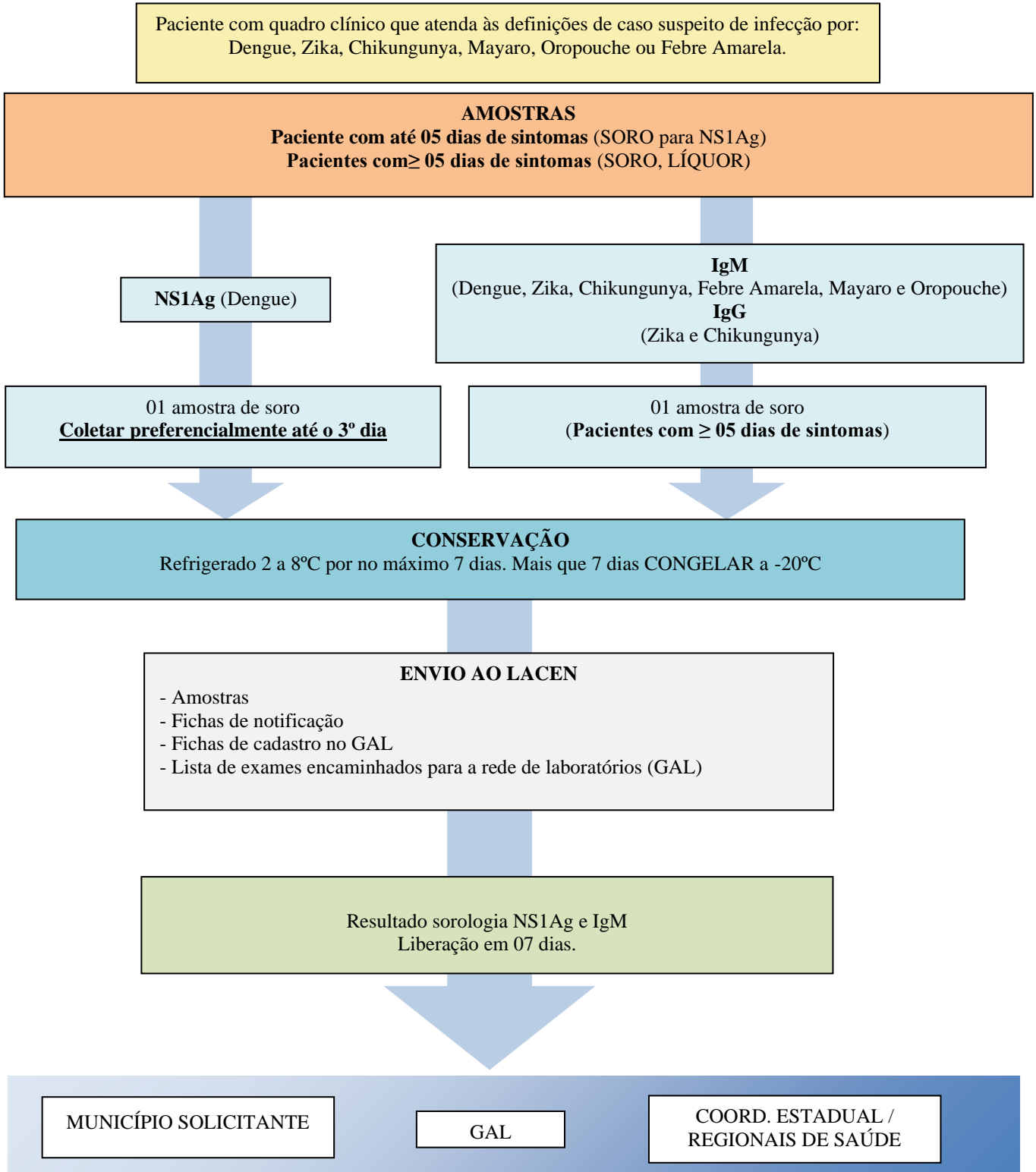
MUNICÍPIO SOLICITANTE

GAL

COORD. ESTADUAL /  
REGIONAIS DE SAÚDE

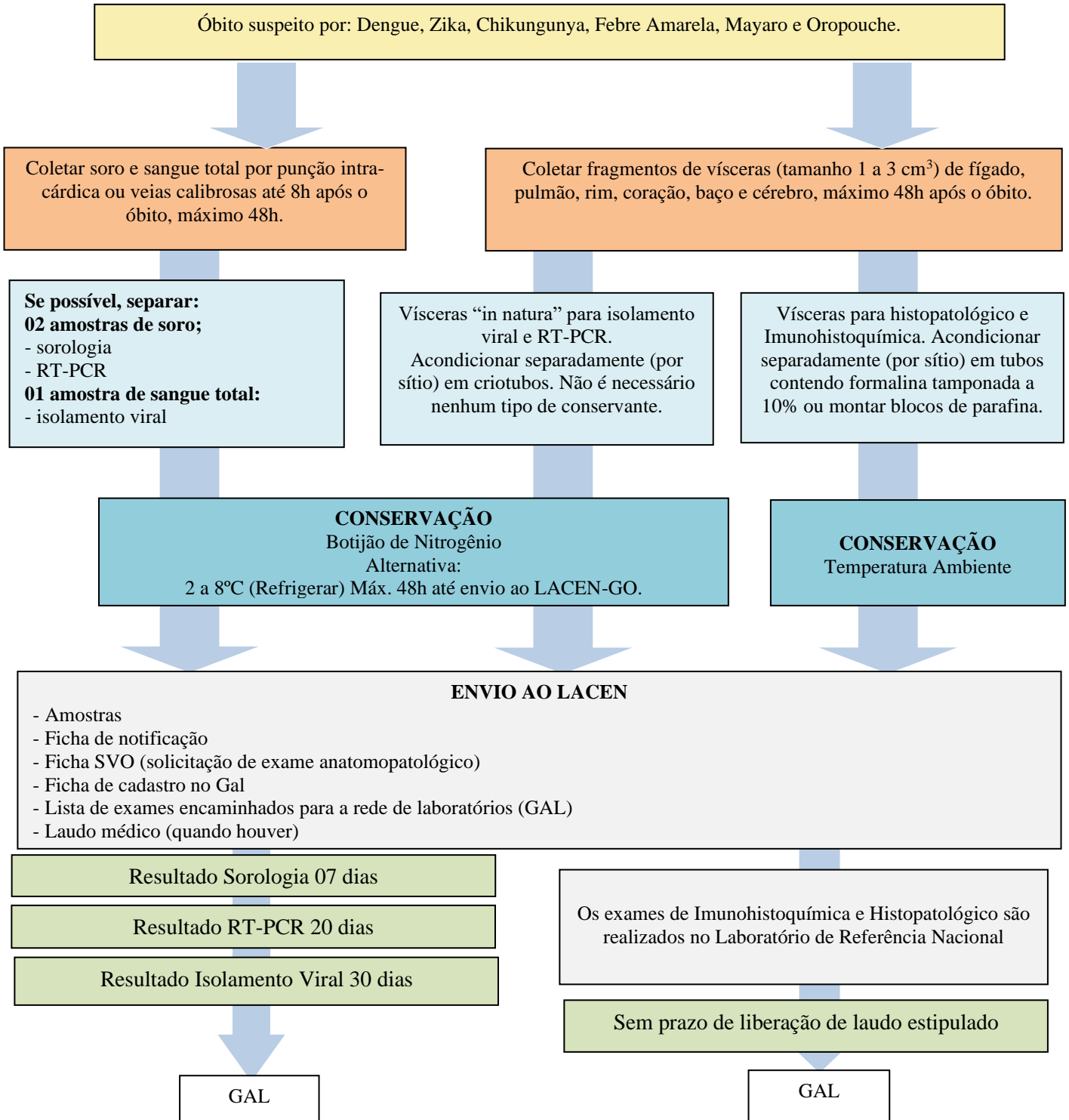
-----  
/ANEXO C

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



-----  
/ANEXO D

**ANEXO D**  
**FLUXO DE INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL EM CASO DE ÓBITO**  
**SUSPEITO DE INFECÇÃO POR ARBOVÍRUS –LACEN-GO**



NÚCLEO DE VIGILÂNCIA LABORATORIAL, COORDENAÇÃO ESTADUAL,  
REGIONAIS DE SAÚDE E MUNICÍPIO SOLICITANTE