



Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde
Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública

NOTA TÉCNICA Nº 427/2021-CGLAB/DAEVS/SVS/MS

Nota Técnica
Conjunta
CGLAB/CGARB
para o
fortalecimento
e priorização
de coleta de
amostras
para
diagnóstico
laboratorial
direto de
arboviroses

I – IMPORTÂNCIA DA COLETA DE AMOSTRAS PRECOCE DE EVENTOS SUSPEITOS DE ARBOVIROSES NO BRASIL

Considerando o advento da pandemia de COVID-19 pelo SARS-Cov-2, foi possível observar um decréscimo acentuado nas notificações de casos suspeitos e prováveis de arboviroses urbanas no ano de 2020, cenário que se manteve no início do ano de 2021, considerando o período sazonal para as Arboviroses (outubro/2020-maio/2021) assim como mais recentemente no início do período sazonal de 2021/2022. Como consequência, observou-se uma redução na coleta de amostras e direcionamento das mesmas para diagnóstico laboratorial.

Cabe destacar que em 2020, segundo dados do Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (Sistema GAL), foi revelado que mais de 92,2% dos exames realizados para Dengue, 84,7% para Chikungunya e 73,6% para o vírus Zika foram realizados a partir de métodos sorológicos que, por sua natureza, limitam a especificidade para a confirmação do diagnóstico etiológico por critério laboratorial. É importante lembrar que a classificação dos casos Chikungunya deve ser realizada *preferencialmente* por critério laboratorial. Para o vírus Zika a classificação dos casos por critério laboratorial é *obrigatória*, assim como os encerramentos de óbitos, de casos em gestantes, crianças e idosos.

Outro fator importante a ser destacado é que os exames de biologia molecular são importantes para que se conheça o sorotipo do vírus dengue (DENV) em circulação no território, assim como reconhecer a circulação dos vírus Zika (ZIKV), Chikungunya (CHIKV), Febre Amarela (YFV) e, mais recentemente, vírus do Nilo Ocidental (WNV). Também servem de base para estudos genômicos e metagenômicos que apoiam os modelos de previsão e dispersão dos mesmos, oferecendo importante subsídio para as ações de intensificação da vigilância, prevenção e controle vetorial além das demais tomadas de decisão.

Orienta-se aos serviços de assistência da rede de atenção à saúde, primária e especializada, que revisem seus protocolos e fluxos de assistência ao paciente e façam os ajustes que eventualmente sejam necessários em relação ao prazo indicado de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial por biologia molecular (Isolamento Viral e RT-PCR), de acordo com o Guia de Vigilância em Saúde, 3ª edição, de 2019. Assim, torna-se possível que as amostras para diagnóstico etiológico das arboviroses sejam coletadas no primeiro contato do paciente com a unidade de saúde, desde que atenda alguma das definições de casos suspeitos de arboviroses.

Frente ao exposto, essa Nota Técnica Conjunta busca enfatizar a recomendação para o fortalecimento das ações de vigilância epidemiológica e laboratorial, afim de que sejam priorizadas as coletas de amostras ainda em fase aguda dos casos suspeitos de arboviroses, bem como nas epizootias de primatas não humanos, aves silvestres e equídeos com sinais neurológicos, visando o diagnóstico etiológico conclusivo assim como para fins de caracterização viral e estudos genéticos/genômicos.

Assim, faz-se necessário que os serviços de saúde, a saber, atenção primária, rede especializada e aqueles de vigilância epidemiológica, estejam sensibilizados sobre a importância da coleta oportuna e/ou precoce de amostras para o diagnóstico etiológico, sobretudo, durante o período inter-sazonal dessas enfermidades.

O tempo recomendado para coleta de amostras para diagnóstico direto de arboviroses (Isolamento Viral, RT-PCR e pesquisa de NS1) é até o 5º (quinto) dia da data de início dos sintomas. Para situações específicas, com matrizes ou espécimes clínicos diferenciados, em que é possível que se estenda o prazo de coleta de amostras, consultar o Anexo I (0023593383) deste documento.

II - DAS RECOMENDAÇÕES

O paciente deve ter a sua amostra para o diagnóstico etiológico para as arboviroses coletada no primeiro acesso ao sistema de saúde, desde que atenda às definições de caso suspeito. Ou seja, se o paciente procura a unidade de saúde dentro dos cinco primeiros dias de sintomas, deve ter amostras *priorizadas para os testes virológicos e/ou de biologia molecular*.

Importante: Não se deve deixar de coletar amostras do paciente a partir do 6º dia de sintomas. Assim, cabe ressaltar que mesmo que o contato do paciente com a unidade ocorra após o tempo recomendado de coleta de amostras por métodos diretos (até o 5º dia de início dos sintomas), o material **deve ser coletado da mesma forma**.

Assim, caso o primeiro contato com o paciente seja feito ***após o quinto dia de sintomas***, a primeira amostra **deve ser coletada**, desta vez, ***solicitando-se exames sorológicos***. Após a primeira coleta, o paciente deve ser orientado a retornar à unidade de saúde após 15 dias da primeira coleta para efetuar coleta da segunda amostra, possibilitando-se a análise de amostras pareadas e verificação da variação de títulos de anticorpos totais.

Portanto, os testes sorológicos permanecem válidos e viáveis na Rede Nacional de Laboratórios de Saúde Pública. O que se busca nesta nota é **aumentar a proporção** de exames realizados por métodos diretos (Isolamento Viral, RT-PCR e NS1) e que as amostras para o diagnóstico das arboviroses sejam realizados no momento mais precoce possível, dentro do atendimento do paciente dentro da Rede de Atenção à Saúde.

Cabe ressaltar que os exames de anatomia patológica, Histopatologia e Imunohistoquímica (IHQ), geralmente são realizados para análises de amostras coletadas *post mortem*.

É importante observar que os *point-of-care test* (POCT), também conhecidos como testes rápidos imunocromatográficos, possuem caráter de **TRIAGEM** e seus resultados **não devem ser utilizados como critério de confirmação laboratorial dos casos suspeitos**.

III - REFERÊNCIAS E INFORMAÇÕES

Para maiores informações, recomenda-se observar os dispostos no Guia de Vigilância em Saúde, disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2019/junho/25/guia-vigilancia-saude-volume-unico-3ed.pdf> e o Guia para Diagnóstico Laboratorial em Saúde Pública, disponível em: https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_sistema_nacional.pdf

Para esclarecimentos sobre investigação de casos suspeitos, entrar em contato por meio do telefone (61) 3315-3928 (Coordenação-Geral de Arboviroses) e/ou diagnóstico laboratorial das arboviroses (DENV, CHIKV, ZIKV, YFV e WNV) entrar em contato por meio do telefone (61) 3315-3054 (Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública). Para dúvidas relativas a questões assistenciais, contatar (61) 3315-9209 (Secretaria de Atenção Especializada à Saúde) e (61) 3315-5906 (Secretaria de Atenção Primária à Saúde), respectivamente.

Atenciosamente,

CARLA FREITAS
Coordenadora-Geral de Laboratórios de Saúde Pública
CGLAB/DAEVS/SVS/MS

CÁSSIO ROBERTO LEONEL PETERKA
Coordenação-Geral de Vigilância de Arboviroses
CGARB/DEIDT/SVS/MS

BRENO LEITE SOARES
Diretor do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde
DAEVS/SVS/MS

CÁSSIA DE FÁTIMA RANGEL FERNANDES
Diretora do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis
DEIDT/SVS/MS

ARNALDO CORREIA DE MEDEIROS
Secretário da Secretaria de Vigilância em Saúde
SVS/MS



Documento assinado eletronicamente por **Carla Freitas, Coordenador(a)-Geral de Laboratórios de Saúde Pública**, em 05/11/2021, às 10:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Breno Leite Soares, Diretor(a) do Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde**, em 05/11/2021, às 17:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cássia de Fátima Rangel Fernandes, Diretor do Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis**, em 09/11/2021, às 16:53, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cássio Roberto Leonel Peterka, Coordenador(a)-Geral de Vigilância de Arboviroses**, em 11/11/2021, às 17:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Arnaldo Correia de Medeiros, Secretário(a) de Vigilância em Saúde**, em 12/11/2021, às 13:24, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º, do art. 4º, do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#); e art. 8º, da [Portaria nº 900 de 31 de Março de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.saude.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0023592285** e o código CRC **6F0F059A**.

ANEXO I

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

| Tipo de Diagnóstico | Amostra Clínica | Procedimento de Coleta | Armazenamento e Conservação | Acondicionamento e Transporte |
|---|---|---|--|---|
| Sorologias (métodos indiretos): Ensaio Imunoenzimático - ELISA (IgM/IgG e NS1*); Inibição da Hemaglutinação; Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT) | Soro, Líquido Cefalorraquidiano (LCR) | Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, sendo a 1ª coleta a partir do 6º dia do início dos sintomas e a 2ª coleta após 15 dias da 1ª coleta, exceto para NS1, quando a amostra deverá ser coletada até o 5º dia após o início dos sintomas. Aliquotar 2-3mL do soro para realizar testes sorológicos. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR | Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/ número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após estes períodos, manter a -70 °C. | |
| Biologia Molecular e Isolamento Viral (métodos diretos): Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-qPCR); Sequenciamento Genético; Inoculação em Células C6/36; Inoculação em Células vero | Sangue, Soro/Plasma, Líquido Cefalorraquidiano (LCR); Urina; Sêmen; Tecido/Fragmentos de Visceras (fígado, rim, coração, pulmão, baço, linfonodo, cérebro, músculo esquelético) Gestantes: placenta e anexos fetais (disco Placentário e cordão umbilical) | Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, para obtenção do soro ou com EDTA para obtenção do plasma, sendo a coleta realizada até o 5º dia a partir do início dos sintomas (casos suspeitos de infecção pelo vírus da Febre Amarela, considerar até o 10º dia). Aliquotar 2-3mL do soro/plasma para realizar testes moleculares. Para urina e sêmen, coletar 10mL até 15 dias após o início dos sintomas. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR, até 15 dias após o início dos sintomas. Para investigação de óbitos, coletar 2cm ³ de fragmentos de vísceras à fresco, logo após o óbito (no máximo 48 horas) Placenta e anexos fetais: pelo menos duas secções de espessura total (0,5 a 1cm x 3 a 4cm de profundidade) do terço médio do disco placentário e pelo menos 1cm da margem do disco placentário Membranas fetais: uma tira de 5 x 12cm de retirada da área de ruptura e incluindo uma pequena parte da borda do disco placentário e dois fragmentos do cordão umbilical | Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/ número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após este período, manter a -70 °C. Obs.: No caso de fragmento de vísceras, não utilizar Formalina tamponada 10%. | Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável. |
| Anatomia Patológica: Histopatologia; Imunohistoquímica (IHQ) | Tecido/Fragmentos de Visceras (fígado, rim, coração, pulmão, baço, linfonodo, cérebro, músculo esquelético) Gestantes: placenta e anexos fetais (disco Placentário e cordão umbilical) | Para investigação de óbitos, coletar 2cm ³ de fragmentos de vísceras a fresco, logo após o óbito em até 48 horas. Placenta e anexos fetais: pelo menos duas secções de espessura total (0,5 a 1cm x 3 a 4cm de profundidade) do terço médio do disco placentário e pelo menos 1cm da margem do disco placentário Membranas fetais: uma tira de 5 x 12cm de retirada da área de ruptura e incluindo uma pequena parte da borda do disco placentário e dois fragmentos do cordão umbilical | Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca, anel de vedação e Formalina tamponada 10% com volume suficiente para cobrir as vísceras. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em temperatura ambiente. | |

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

Orientações para coleta, armazenamento, conservação e transporte das amostras biológicas de **ANIMAIS para o diagnóstico laboratorial de Arboviroses**

| Tipo de Diagnóstico | Amostra Clínica | Procedimento de Coleta | Armazenamento e Conservação | Acondicionamento e Transporte | Observações |
|---|---|--|---|--|---|
| Sorologia (métodos indiretos) | Sangue; Líquido Cefalorraquidiano (LCR) ¹ | Coletar o sangue sem anticoagulante, e separar no mínimo 1mL do soro para sorologia. Coletar amostras pareadas, sendo a primeira o mais breve possível após o início dos sinais clínicos e a segunda pelo menos 14 dias depois. | Tubo plástico estéril com tampa de rosca devidamente identificado. Conservar em freezer a -20°C. | Transportar em caixa de transporte de amostra biológica com gelo reciclável. Caso não seja possível, pode-se utilizar gelo comum (contido em saco plástico). | Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. O tempo máximo para a coleta não deve ultrapassar 6 horas da morte do animal. Enviar material para o Lacen. |
| Biologia Molecular e Isolamento Viral (métodos diretos): Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-qPCR); Sequenciamento Genético; Inoculação em Células C6/36; Inoculação em Células vero | Sangue/Soro; Líquido Cefalorraquidiano (LCR) ¹ | Coletar o sangue sem anticoagulante. Colher de 2 a 6mL (animais com até 3 kg) ou de 6 a 10mL (animais acima de 6 kg). Em animais mortos, colher 6 a 10mL por punção cardíaca | Tubo resistente a temperatura ultrabaixa (CRIOTUBO) capacidade de 2mL com tampa de rosca e anel de vedação, devidamente identificado. Utilizar três tubos e colocar de 0,5 a 1mL de sangue ou soro em cada um. Conservar a -70°C. | Colocar em saco plástico individualizado dentro de uma canaleta identificado no botijão de nitrogênio líquido ou em caixa de transporte de amostras biológicas contendo gelo seco. | Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. O tempo máximo para a coleta não deve ultrapassar 6 horas da morte do animal. Enviar material para o Lacen. |
| | Tecido/Fragmentos de Visceras | Coletar fragmentos pequenos (0,5 cm de espessura x 2 cm de comprimento) do fígado, rim, coração, baço, pulmão, linfonodos e cérebro. A obtenção das amostras deverá ser feita o mais precoce possível (ideal até 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas). | Frasco plástico estéril com tampa de rosca resistente a temperatura ultrabaixa. Capacidade 15mL. Conservar em freezer a -70°C. | Colocar em saco plástico individualizado dentro de uma canaleta identificado no botijão de nitrogênio líquido ou em caixa de transporte de amostras biológicas contendo gelo seco. | Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. Colocar o fragmento de cérebro em frascos separados dos demais fragmentos. Os órgãos devem ser armazenados separadamente Enviar material para o Lacen |
| Anatomia Patológica: Histopatologia; Imunohistoquímica (IHQ) | Tecido/Fragmentos de Visceras | Coletar fragmentos pequenos (2 a 3 cm ³) de fígado, rim, baço, coração, pulmão, linfonodos e cérebro. A obtenção das amostras deverá ser o mais precoce possível (ideal até 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas) | Colocar os fragmentos de vísceras em frasco com tampa de rosca contendo formalina tamponada. | Colocar os frascos em caixa de transporte de amostra biológica sem gelo. Conservar em temperatura ambiente. | Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. Usar formalina tamponada a 10%, com volume 10 vezes maior que o volume dos fragmentos. Enviar material para o Lacen. |

* Para equinos