



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 **umentar 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://portalquivos2.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