



GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA  
Agência Estadual de Vigilância em Saúde de Rondônia - AGEVISA

**NOTA**



GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
AGÊNCIA ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE  
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

NOTA TÉCNICA Nº 01/2022/AGEVISA/LACEN/SESAU/RO

**FLUXO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE CASOS SUSPEITOS DE DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA AO LACEN/RO**

**INTRODUÇÃO**

Dengue (DENV), Chikungunya (CHIKV) e Zika (ZIKV) são arboviroses de grande importância que afetam o ser humano e constituem sério problema de saúde pública no mundo, sendo transmitidas pelo mosquito *Aedes aegypti* e tendo seu controle principal baseado nas medidas de combate ao mosquito transmissor.

**DEFINIÇÃO DE CASO SUSPEITO**

**Dengue:** paciente com febre, usualmente entre dois e sete dias de duração, com pelo menos dois dos seguintes sintomas: náuseas, vômito, cefaléia, dor retro-orbital, mialgia, artralgia, prostração, exantema, leucopenia, petéquia ou prova do laço positiva.

**Chikungunya:** paciente com febre de início súbito maior que 38,5°C e artralgia ou com artrite intensa de início agudo, não explicado por outras condições, sendo residente ou tendo visitado áreas endêmicas ou epidêmicas até duas semanas antes do início dos sintomas ou que tenha vínculo epidemiológico com caso confirmado.

**Zika:** paciente que apresente exantema maculopapular pruriginoso ou não, acompanhado de pelo menos um dos seguintes sinais ou sintomas: febre, hiperemia conjuntival sem secreção/prurido, poliartralgia, edema periarticular.

## DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico laboratorial das arboviroses causadas pelos vírus DENV, CHIKV e ZIKV depende da associação de uma série de análises por diferentes métodos diagnósticos realizados pelo LACEN/RO, a saber:

- **Diagnóstico sorológico:** detecção de antígeno NS1 por ELISA (DENV), detecção de anticorpos da classe IgM por ELISA (DENV, CHIKV e ZIKV) e detecção de anticorpos da classe IgG por ELISA (CHIKV e ZIKV).
- **Diagnóstico molecular e sorotipagem:** detecção de RNA viral por Técnica ZDC RT-PCR (ZIKV, DENV e CHIKV) com sorotipagem de DENV-1, DENV-2, DENV-3 e DENV-4.

Desta forma, as amostras coletadas dependem da informação via **ficha de notificação e GAL da data de início dos sintomas e data de coleta do material** para adequado processamento dos testes laboratoriais a serem executados no LACEN/RO.

Devido à necessidade de otimização da rotina laboratorial, complexidade inerente aos métodos executados e prevenção de perda de insumos, cada exame possui um prazo próprio para execução e liberação de resultados que varia de **07 a 10 dias úteis**, dependendo do exame considerado (**ver TABELA 1**).

**Tabela 1. Prazos para execução e liberação de resultados de exames.**

LACEN/RO	
Exame	Prazo para execução e liberação pelo LACEN/RO
DENV NS1 (ELISA)	07 dias úteis
DENV, CHIKV e ZIKV IgM (ELISA)	07 dias úteis
DENV Molecular (ZDC - RT-PCR)	10 dias úteis
ZIKV Molecular (ZDC - RT-PCR)	10 dias úteis
CHIKV Molecular (ZDC - RT-PCR)	10 dias úteis
CHIKV e ZIKV IgG (ELISA)	07 dias úteis

O correto diagnóstico das arboviroses citadas é diretamente dependente da escolha do teste laboratorial apropriado ao momento da doença que o paciente se encontra, uma vez que cada método citado possui uma janela de detecção própria (**ver TABELA 2**)

Amostras que forem encaminhadas ao LACEN/RO sem atenderem às definições de casos suspeitos e/ou a os critérios de qualidade serão **descartadas de acordo com normas disponíveis no**

**sistema GAL, conforme descrito abaixo:**

- Recipiente sem amostra;
- Requisição Cancelada pela Gerência do Gal devido à expiração do prazo de triagem;
- Requisição ilegível;
- Requisição imprópria;
- Requisição recebida sem amostra;
- Requisição sem identificação do profissional responsável;
- Preenchimento inadequado da requisição/Ficha epidemiológica;
- Recipiente quebrado no transporte;
- Exame realizado anteriormente;
- Falta de kit;
- Identificação do paciente diferente da amostra e requisição;
- Incidente Técnico;
- Metodologia não utilizada;
- Ausência de critérios clínicos epidemiológicos para realização do exame;
- Cadastro incorreto da amostra;
- Coleta inadequada;
- Diagnóstico realizado em outra metodologia/espécime clínico;
- Amostra lipêmica;
- Amostra não corresponde a indicada;
- Amostra vazada;
- Amostra em temperatura inadequada;
- Amostra fora do prazo de coleta;
- Amostra hemolisada;
- Amostra imprópria para análise solicitada;
- Amostra insuficiente;
- Acondicionamento inadequado;
- Amostra com identificação ilegível;
- Amostra com identificação inadequada;
- Amostra contaminada;
- Amostra discordante com a requisição.

De acordo com o **Nota Técnica Nº. 427/2021-CGLAB/DAEVS/SVS/MS**, 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 que apoiam os modelos de previsão e dispersão destas doenças, 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 necessários em relação ao prazo indicado de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial por biologia molecular (RT-PCR), de acordo com o **Guia de Vigilância em Saúde, 5ª edição, de 2021**. 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 dessas arboviroses.

#### ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISE

- A **amostra** preferencial para diagnóstico das arboviroses citadas é **soro**, devendo ser coletado de 5 a 10 mL de sangue total sem anticoagulante em tubo com gel separador, mantido em temperatura ambiente por até 30 minutos para retração do coágulo e em seguida centrifugado por 5 a 10 minutos a 3500 rpm.
- O soro ( **volume**) obtido (3,0 mL e no mínimo 2,0 mL) deverá ser transferido assepticamente para criotubos (pelo menos **um criotubo com 2,0 mL para cada agravo**), devidamente identificados com caneta permanente contendo o nome do paciente, data da coleta, município, agravo e numeração do sistema GAL.
- Caso haja impossibilidade de encaminhamento de criotubos com identificação permanente em caneta, os mesmos podem ter colado um esparadrapo sobre o mesmo e, por cima, escrita a identificação do paciente.
- Para casos de suspeita de infecção por ZIKV, recém-nascidos poderão ter **sangue do cordão umbilical** coletado em tubos contendo anticoagulante EDTA, sendo posteriormente identificados e acondicionados conforme orientado para amostras de soro, exceto que para **sangue total não se deve congelar e nem encostar o frasco diretamente no gelo** reciclável para evitar hemólise mantendo refrigerado de 2 a 8°C até o transporte.
- Os criotubos contendo soro devem ser armazenados preferencialmente em nitrogênio líquido até o momento do envio ao LACEN/RO, permanecendo completamente imersos no mesmo em canaletas próprias para botijas ou penduradas com barbante. Na impossibilidade provisória de armazenamento em nitrogênio, a amostra deve permanecer congelada em temperatura mais baixa possível (ideal à -70°C para exames moleculares e -20°C para demais exames). As amostras destinadas a pesquisas sorológicas poderão ser **refrigeradas ou congeladas**. (ver TABELA 2) Se não houver centrífuga, deixar o tubo repousar na geladeira (2 a 8°C) por um período máximo de 24 horas, o que possibilita a retirada do soro após decantação.
- A **conservação** da amostra até o envio para sorologia a amostra poderá permanecer em geladeira (2 a 8°C) por até 12 horas e, em seguida deve ser congelado em freezer (-20°C) até o momento do transporte ou da realização dos testes. **A AMOSTRA DEVE SER ENCAMINHADA AO LABORATÓRIO NO MÁXIMO 30 DIAS APÓS A DATA DA COLETA**, após este prazo amostra se torna inviável para análise e estudos epidemiológicos.
- Para **Biologia Molecular: Quando as amostras não puderem ser armazenadas a -70°C** ou acondicionados em botijão com nitrogênio líquido, as mesmas deverão ser armazenadas a -20 até o momento do transporte ou da realização dos testes.
- O envio das amostras deve ser feito preferencialmente em **até 24 horas** após a coleta, contanto que mantidas as condições de temperatura citadas acima. O acondicionamento durante transporte deve

ser feito em caixas térmicas contendo gelo reciclável (Gelox®) suficiente para manter a **AMOSTRA CONGELADA** e a temperatura entre 2°C e 8°C até o momento da entrega no LACEN/RO com termômetro avaliando a temperatura.

- Todas as amostras enviadas ao LACEN devem ter sido devidamente cadastradas e encaminhadas para a rede via GAL, contendo os exames solicitados cadastrados no mesmo sistema. As amostras encaminhadas devem acompanhar a ficha de notificação (uma para cada agravo solicitado) preenchida, **obrigatoriamente** contendo data de início de sintomas, data de coleta, sintomas relatados e dados pessoais do paciente.
- Amostras obtidas por meio de biópsia, vísceras *post-mortem*, cordão umbilical *in natura*, urina, líquido cefalorraquidiano (LCR) e secreções em geral **não são** utilizadas para diagnóstico de DENV, CHIKV e ZIKV no LACEN/RO, **não devendo, portanto, ser coletadas para análise.**

### CRITÉRIOS DE REJEIÇÃO DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS

- Amostras de soro que apresentam hemólise, coágulos e resíduos de fibrina afetam a viabilidade do diagnóstico, devendo ser evitados no momento da coleta;
- Amostras acondicionadas e enviadas em tubos diferentes de criotubos (tais como *ependorffs*, tubos de hemólise, etc.) não são viáveis para diagnóstico e serão descartadas fisicamente e no sistema GAL com descrição da não-conformidade no mesmo;
- Amostras enviadas sem fichas de notificação ou sem cadastro no GAL não serão processadas, bem como amostras que forem enviadas fora da temperatura mínima de congelamento prevista ou que sejam distintas das especificadas acima; em ambos os casos haverá descarte físico e no sistema GAL com descrição da não-conformidade ocorrida;
- Amostras que estiverem fora da janela de detecção dos testes solicitados serão direcionadas ao método de diagnóstico adequado à janela de detecção informada nas fichas de notificação e GAL.
- **Amostra com prazo superior a 30 dias após a data da coleta.**

### CRITÉRIOS PARA EXECUÇÃO DE EXAMES LABORATORIAIS

Devido à limitação de insumos fornecidos pelo Ministério da Saúde e de capacidade técnica oferecida pelo LACEN/RO, desde a implantação dos testes moleculares para diagnóstico de arboviroses, em 01/03/2016, são observados pela equipe do LACEN/RO critérios clínico-epidemiológicos e laboratoriais, embasados nas informações contidas na literatura científica sobre o tema, para execução de exames diagnósticos e otimização da identificação de casos positivos para DENV, CHIKV e ZIKV no âmbito estadual. Dessa forma, para execução de cada exame, a amostra biológica devidamente coletada e acondicionada deve atender aos seguintes critérios na **(TABELA 2)**.

Orienta-se para que as **unidades de saúde responsáveis pela coleta do material clínico e inserção no sistema GAL** atentem para o correto cadastro do exame que deve ser feito tendo por base o **período transcorrido do início dos sintomas até a coleta da amostra**, de maneira que a chance de diagnóstico do paciente seja maior e que não haja gasto desnecessário de insumos laboratoriais. **Dessa forma, é obrigatório informar a data de início dos sintomas e de coleta da amostra, muito importante que a ficha de notificação tenha todos campos preenchidos para evitar inadequidade da amostra.**

Pacientes com suspeita de infecção por CHIKV ou ZIKV cujo momento de coleta da amostra de soro seja **exatamente de 15 dias** após o início dos sintomas devem ser submetidos tanto a pesquisa de

IgM como de IgG e cadastrados no sistema GAL, devido ao momento da doença poder coincidir com o *switch* de classe de anticorpos.

Pacientes com resultados **previamente positivos para ZIKV ou CHIKV IgM** e que tenham **indicação clínica** para repetição do exame por suspeita de infecção persistente, bem como pacientes cujos exames tenham apresentado resultados **indeterminados**, poderão ter suas amostras de soro re-coletadas e encaminhadas ao LACEN/RO para realização de nova pesquisa do respectivo IgM **contanto que o motivo seja informado na ficha de notificação e com que o resultado do primeiro exame seja anexado à nova coleta**, se possível.

Os exames para DENV baseados na METODOLOGIA de biologia molecular (RT-PCR) **somente** são realizados para determinação do sorotipo viral implicado na infecção, tendo, portanto, valor unicamente epidemiológico e não diagnóstico.

A solicitação de exames simultâneos para DENV, CHIKV e ZIKV somente é indicada nos casos onde o paciente, mesmo após rigorosa avaliação, não apresente sinais clínicos que possibilitem defini-lo em um dos casos suspeitos ou, ainda, com que o mesmo esteja internado em unidade de referência com agravamento do quadro clínico.

Os grupos prioritários para investigação através do RT-PCR para ZIKV continuam sendo gestantes com exantema em qualquer idade gestacional, recém-nascidos com microcefalia ou cuja mãe apresente resultado positivo para ZIKV durante a gestação, bem como óbitos.

## Referências e Informações:

Para maiores informações, recomenda-se observar os dispostos no Guia de Vigilância em Saúde, disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/vigilancia/guia-de-vigilancia-em-saude-5ed-21nov21-isbn5.pdf/view> e o Guia para Diagnóstico Laboratorial em Saúde Pública, disponível em: [https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_laboratorial\\_sistema\\_nacional.pdf](https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_laboratorial_sistema_nacional.pdf).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-

Geral de Laboratórios de Saúde Pública. NOTA TÉCNICA Nº 427/2021-CGLAB/DAEVS/SVS/MS, de 5 de novembro de

2021. Nota Técnica Conjunta CGLAB/CGARB, versa sobre o fortalecimento e priorização de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial direto de arboviroses.



GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA  
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE  
AGÊNCIA ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE  
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA

NOTA TÉCNICA Nº 01/2022/AGEVISA/LACEN/SESAU/RO

**FLUXO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE CASOS SUSPEITOS DE DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA AO LACEN/RO**

**Tabela 2.**

Agravo	Tempo de Sintomas	Tipo de Diagnóstico	Amostra Clínica	Armazenamento e Conservação
Dengue	Até 5º dia de sintomas	Detecção de NS1	Soro 3mL (1 criotubos)	• Congelamento (-20°C) - até 72 horas, manter congelado até o transporte que deve permanecer de (2°C a 8°C) controlado com termômetro
		ZDC - RT-PCR	Soro 3mL (1 criotubos)	

	Após 5º ao 15 dia de sintomas	IgM	Soro 3mL (1 criotubos)	no isopor contendo (Gelox®), o transporte deve ser efetuado até 12 horas.
Chikungunya	Até 5º dia de sintomas	ZDC - RT-PCR	Soro 3mL (1 criotubos)	
	Após 5º dia de sintomas	IgM/IgG	Soro 3mL (1 criotubos)	
Zika	Até o 5º dia de sintomas	ZDC - RT-PCR	Soro 3mL (1 criotubos)	
	Após 5º dia de sintomas.	IgM/IgG	Soro 3mL (1 criotubos)	



**AGEVISA**  
AGÊNCIA ESTADUAL DE  
VIGILÂNCIA EM SAÚDE



**GOVERNO DO ESTADO DE RONDÔNIA**  
**SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE**  
**AGÊNCIA ESTADUAL DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE**  
**LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA**

**NOTA TÉCNICA Nº 01/2022/AGEVISA/LACEN/SESAU/RO**

## **FLUXO E ENCAMINHAMENTO DE AMOSTRAS PARA DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE CASOS SUSPEITOS DE DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA AO LACEN/RO**

<b>Procedimentos de Coleta</b>	<b>Acondicionamento e Transporte</b>	<b>Crítérios de Rejeição</b>
Devendo ser coletado de 5 a 10 mL de sangue total sem anticoagulante em tubo com gel separador, mantido em temperatura ambiente por até 30 minutos para retração do coágulo e em seguida centrifugado por 5 a 10 minutos a 3500 rpm.	Obtenção de 3,0 mL e no mínimo 2,0 mL de soro, deverá ser transferido assepticamente para criotubos (pelo menos um(1) criotubo com 2,0 mL para cada agravo), com tampa de rosca. Por motivo de segurança do manipulador não serão aceitos tubos com tampa tipo rolha para e biologia molecular, devidamente identificados com caneta permanente contendo o nome do paciente, data da coleta, município, agravo e numeração do sistema	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recipiente sem amostra;</li> <li>• Requisição Cancelada pela Gerência do Gal devido à expiração do prazo de triagem;</li> <li>• Requisição ilegível;</li> <li>• Requisição imprópria;</li> <li>• Requisição recebida sem amostra;</li> <li>• Requisição sem identificação do profissional responsável;</li> <li>• Preenchimento inadequado da requisição/Ficha epidemiológica;</li> </ul>



	<p>GAL. Caso haja impossibilidade de criotubos com identificação de caneta permanente o mesmo podem ter colado um esparadrapo sobre o mesmo e, por cima, escrita a identificação do paciente. As amostras destinadas a pesquisas sorológicas poderão ser refrigeradas ou congeladas. - O envio das amostras deve ser feito preferencialmente em até <b>24 horas</b> após a coleta, contanto que mantidas as condições de temperatura citadas acima. O acondicionamento durante transporte deve ser feito em caixas térmicas contendo gelo reciclável (Gelox®) suficiente para manter a AMOSTRA CONGELADA e a temperatura entre - 4°C e 8°C até o momento da entrega no LACEN/RO.</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Recipiente quebrado no transporte;</li> <li>• Exame realizado anteriormente;</li> <li>• Falta de kit;</li> <li>• Identificação do paciente diferente da amostra e requisição;</li> <li>• Incidente Técnico;</li> <li>• Metodologia não utilizada;</li> <li>• Ausência de critérios clínicos epidemiológicos para realização do exame;</li> <li>• Cadastro incorreto da amostra;</li> <li>• Coleta inadequada;</li> <li>• Diagnóstico realizado em outra metodologia/espécime clínico;</li> <li>• Amostra lipêmica;</li> <li>• Amostra não corresponde a indicada;</li> <li>• Amostra vazada;</li> <li>• Amostra em temperatura inadequada;</li> <li>• Amostra fora do prazo de coleta;</li> <li>• Amostra hemolisada;</li> <li>• Amostra imprópria para análise solicitada;</li> <li>• Amostra insuficiente;</li> <li>• Acondicionamento inadequado;</li> <li>• Amostra com identificação ilegível;</li> <li>• Amostra com identificação inadequada;</li> <li>• Amostra contaminada;</li> <li>• Amostra discordante com a requisição.</li> </ul>
--	--	---

**OBS.: Critérios de aceite para execução de exames laboratoriais para DENV, CHIKV e ZIKV pelo LACEN/RO – LEMBRANDO TODAS AS AMOSTRAS DEVEM VIR ACOMPANHADAS DAS NOTIFICAÇÃO.**

CEL BM GILVANDER GREGÓRIO DE LIMA  
DIRETOR GERAL/AGEVISA – RO

CESARINO JÚNIOR LIMA APRÍGIO  
GERENTE – GTVAM/AGEVISA – RO

GLAUCIANE DA SILVA BIFANO TAVARES  
CHEFE DE NUCLEO – NDTV/GTVAM/AGEVISA – RO

JOANA D'ARC NEVES COSTA  
COORDENADORA – NDTV/GTVAM/AGEVISA – RO

KELLY LIMA GOMES DE FREITAS  
TÉCNICA DO PROGRAMA NDTV/GTVAM/AGEVISA – RO

NATALIE DOS SANTOS TELES  
ESTAGIÁRIA DE ENFERMAGEM – NDTV/GTVAM/AGEVISA - RO

CICILEIA CORREIA DA SILVA

BIOMÉDICA - DIRETORA – LACEN – RO

EDNÉIA RODRIGUES DO NASCIMENTO  
BIOMÉDICA - RESPONSÁVEL TÉCNICA PELOS AGRAVOS – LACEN – RO

ROSIMERIE CRISTINA DALLA MARTHA  
BIOQUÍMICA Dra. - RESPONSÁVEL TÉCNICA PELOS AGRAVOS – LACEN–RO

Porto Velho, 30 de março de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Cicileia Correia da Silva, Diretor(a)**, em 05/04/2022, às 13:13, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no artigo 18 caput e seus §§ 1º e 2º, do [Decreto nº 21.794, de 5 Abril de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **CESARINO JUNIOR LIMA APRIGIO, Gerente**, em 05/04/2022, às 13:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no artigo 18 caput e seus §§ 1º e 2º, do [Decreto nº 21.794, de 5 Abril de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Gilvander Gregorio de Lima, Diretor(a)**, em 06/04/2022, às 13:12, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no artigo 18 caput e seus §§ 1º e 2º, do [Decreto nº 21.794, de 5 Abril de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [portal do SEI](#), informando o código verificador **0027826821** e o código CRC **F9AEDF91**.