



GOVERNO DE SERGIPE
SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE
FUNDAÇÃO DE SAÚDE PARREIRAS HORTA - FSPH
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA – LACEN/SE

NOTA TÉCNICA N. 02/2015/LACEN/FSPH

Versão 1.3

**ORIENTAÇÕES PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS
PARA A INVESTIGAÇÃO DE MICROCEFALIA EM SERGIPE.**

OBJETIVO: Normatizar procedimentos técnicos para coleta, acondicionamento e transporte de amostras biológicas para o diagnóstico de microcefalia em Sergipe.

Obs.: Algumas informações contidas nesta Nota Técnica estão de acordo com o *Protocolo de Vigilância e Resposta à Ocorrência de Microcefalia relacionada à infecção pelo Zika Vírus (MS/SVS)*.

1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL:

- Sorologia, RT-PCR em Tempo Real e Isolamento Viral para os diagnósticos de:
Zika Vírus, Chikungunya, Dengue, Citomegalovírus, Rubéola, Toxoplasmose, Herpes Vírus e Sífilis

2. TIPOS DE AMOSTRAS PARA A INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL:

- Soro/Sangue (Gestante ou RN)
- Sangue/soro cordão umbilical (RN, preferencialmente)
- Urina (Gestante)
- Líquor (RN)
- Placenta
- Cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço de feto abortado ou natimorto

3. COLETA DE AMOSTRAS:

- Coletar as amostras:

- Sangue recém-nascido (RN, mínimo 3-5 mL) e Gestante (10 mL)
- Urina (mínimo 10 mL)
- Líquor (mínimo 1 mL)
- O sangue deve ser coletado sem anticoagulante, com seringa estéril descartável ou tubo à vácuo com gel separador, resistente à temperatura com tampa de rosca e anel de vedação;
- Para os casos de amostras de sangue esperar a retração do coágulo (aprox. 15' a 20') e centrifugar (aprox. 1.500 rpm por 10 min) para separar o soro;
- Manter a amostra separada no tubo de origem. Não transferir o soro para outro tubo.
- Para a coleta de vísceras do feto abortado ou natimorto utilizar tubo plástico estéril sem nenhum tipo de conservante (seco), resistente à temperatura ultra baixa com tampa de rosca e boa vedação. Colocar o fragmento de cada víscera em tubos separados.

4. ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS:

- Após a coleta, a amostra deve ser mantida na geladeira (2 a 8°C) por até 6 h e enviada ao Lacen imediatamente, após esse período de tempo a amostra deverá ser acondicionada em freezer -20°C ou -70°C (preferencialmente);
- Não se deve congelar o sangue total antes de centrifugar, pois a hemólise pode interferir no resultado do teste de sorologia e PCR;
- O envio deve ser sob acondicionamento em gelo reciclável congelado, em caixa térmica, para manter a temperatura da amostra refrigerada ou congelada;
- Não colocar papel ou papelão entre as amostras e o gelo, pois isso impede que a amostra atinja a temperatura adequada, no entanto evitar o contato direto do gelo com a amostra, podendo envolvê-la com plástico ou separar nas galerias;
- As amostras deverão vir acompanhadas da requisição do Gal identificando os pacientes no campo destinado à observação com as seguintes designações:
 - Gestante sem rash com filho microcefálico.
 - Gestante com rash com ou sem filho microcefálico.
 - Recém-nascido com microcefalia.
 - Aborto ou natimorto.

Cadastrar no Gal clicando na Pesquisa “Microcefalia” que automaticamente inserirá os exames associados. Ficar atento para o tipo de material (soro, líquido, fragmento de placenta, fragmento de cordão umbilical, urina) pois para cada um deverá ser incluída uma nova pesquisa.
- Rotular os tubos com nome do paciente, data da coleta e tipo de víscera (no caso de aborto ou natimorto).
- As amostras deverão ser encaminhadas ao Lacen acompanhadas da ficha de investigação epidemiológica;

- Assim que as amostras derem entrada na triagem do Lacen, deverão ser imediatamente enviadas para a Imunologia a fim de serem aliquotadas e acondicionadas em temperatura -70°C ou inferior.

5. INFORMAÇÕES INERENTES

- Os testes de sorologia para Dengue, Citomegalovírus, Rubéola, Toxoplasmose, Herpes e Sífilis serão executados no Lacen/SE;
- As amostras para sorologia de *Chikungunya* serão enviadas para o Lacen/CE, o PCR para *Chikungunya* e Zika Vírus serão encaminhadas ao IEC/PA e o PCR para Dengue será enviada para a Fiocruz/RJ;
- Todas as amostras de gestantes com sintomas de doença exantemática deverão ser encaminhadas ao Lacen para investigação laboratorial no prazo de até 6 horas da coleta, caso contrário, a gestante deverá ser encaminhada para proceder com a coleta no próprio Lacen.
- Em breve, os diagnósticos de Zika, Chikungunya e Dengue por PCR serão realizados no Lacen/SE.

Em casos de dúvidas, entrar em contato com o Lacen nos telefones:
Gerência de Imunologia e Biologia Molecular: (79)3234-6057/99142-5986

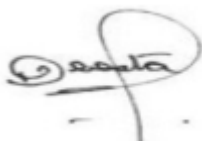
Aracaju, 18 de dezembro de 2015



Cliomar Alves dos Santos
Gerente de Imunologia e Biologia Molecular
FSPH/Lacen/SE

Aprovo a Nota Técnica 01/2015/LACEN/FSPH.

Aracaju, 18 de dezembro de 2015



Danuza Duarte Costa
Superintendente
FSPH/Lacen/SE

ANEXOS

Instruções para Teste Sorológico de gestantes e recém-nascidos com suspeita de infecção pelo vírus Zika

	GESTANTE SEM RASH COM FILHO MICROCEFÁLICO	GESTANTE COM RASH COM OU SEM FILHO MICROCEFÁLICO	RECÉM-NASCIDO COM MICROCEFALIA
SOROLOGIA (Amostras positivas no ELISA IgM serão submetidas ao PRNT)			
PROCEDIMENTO	2 Coletas	2 Coletas	1 Coleta
AMOSTRA	Soro	Soro	Sangue (soro), Cordão Umbilical, Líquor
VOLUME	2-3 ml	2-3 ml	3ml Sangue (soro), Cordão Umbilical e 1 ml Líquor
TEMPO	1ª COLETA: Momento da confirmação da microcefalia do feto 2ª COLETA: 2 a 4 semanas após a 1ª coleta	1ª COLETA: Até 3 a 5 dias após o início dos sintomas 2ª COLETA: 2 a 4 semanas após a 1ª coleta	Momento do nascimento

Instruções para teste de Biologia Molecular (RT-PCR) de gestantes e recém-nascidos com suspeita de infecção pelo vírus Zika

	GESTANTE SEM RASH COM FILHO MICROCEFÁLICO	GESTANTE COM RASH COM OU SEM FILHO MICROCEFÁLICO	RECÉM-NASCIDO COM MICROCEFALIA
Biologia Molecular (PCR real time)			
PROCEDIMENTO	1 Coleta	1 Coleta	1 Coleta
AMOSTRA	Soro	Soro* e Urina	Sangue* (soro), Cordão Umbilical, Líquor e Placenta
VOLUME	2-3 ml Soro	2-3 ml Soro e 10 ml Urina	3 ml Sangue, Cordão Umbilical e 1 ml Líquor e Placenta
TEMPO	Momento da confirmação da microcefalia do feto	SORO: 0 a 5 dias após início dos sintomas URINA: até 8 dias após início dos sintomas	Momento do nascimento

Para diagnóstico sorológico

Tipo de Material	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte ¹
Sangue (Soro)	Coletar cerca de 10 ml de sangue, sem anticoagulante, da mãe sendo a 1ª coleta 3 a 5 dias após o início dos sintomas e a 2ª coleta após 2 a 4 semanas. Separar no mínimo 2 a 3 ml do soro, para sorologia. No caso do RN, coletar 2 a 5 ml de sangue (preferencialmente do cordão umbilical), sem anticoagulante, e separar 0,5 a 1,0 ml de soro para sorologia.	Utilizar tubo plástico estéril com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20°C.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável.
Sangue (soro) de cordão umbilical	Coletar 2 a 5 ml de sangue, sem anticoagulante, do RN no momento do nascimento.	Utilizar tubo plástico estéril com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20°C.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável.
Líquor	Coletar 1 ml do RN no momento do nascimento.	Utilizar tubo plástico estéril com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20°C.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável.

¹ Incluir na remessa a(s) ficha(s) com dados clínicos e epidemiológicos do(s) paciente(s).

Para diagnóstico por RT-PCR (Reação da transcriptase reversa, seguida de reação em cadeia da polimerase)

Tipo de Material	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte ¹
Sangue/soro	Coletar cerca de 10ml de sangue, sem anticoagulante, da mãe até 3 a 5 dias após o início dos sintomas. Separar no mínimo 2 a 3 ml do soro, para a RT-PCR. No caso do RN, coletar 2 a 5 ml de sangue (preferencialmente do cordão umbilical), sem anticoagulante, e separar 0,5 a 1,0 ml de soro para a RT-PCR.	Utilizar tubo plástico estéril, resistente à temperatura com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.
Sangue (soro) de cordão umbilical	Coletar 2 a 5 ml de sangue, sem anticoagulante, do RN no momento do nascimento.	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.
Líquor	Coletar 1 ml do RN no momento do nascimento.	Utilizar tubo plástico estéril, resistente a temperatura, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.
Urina (gestante com RASH)	Coletar 10 ml até 8 dias após o início dos sintomas.	Utilizar tubo plástico estéril, resistente à temperatura, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.
Placenta	Coletar 3x3 cm da placenta no momento do nascimento.	Obter 3 fragmentos de placenta (dimensões de 1cm ³ cada), de tecido não fixado e transferir para frasco estéril, resistente a temperatura, com tampa de rosca. Identificar o material (placenta) e rotular o frasco com o nome do paciente e data da coleta. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.

¹ Incluir na remessa a(s) ficha(s) com dados clínicos e epidemiológicos do(s) paciente(s).

Instruções para coleta e encaminhamento de amostras para Diagnóstico Laboratorial (por RT-PCR e isolamento viral) de Natimorto suspeito de Microcefalia

Tipo de Material	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte ¹
Vísceras	Coletar 1cm ³ de cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço do natimorto	Utilizar tubo plástico estéril sem NENHUM tipo de conservante (seco), resistente à temperatura ultra baixa com tampa de rosca e boa vedação. Colocar o fragmento de cada víscera em tubos separados. Rotular os tubos com o nome do paciente, data de coleta e tipo de víscera. Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio para o laboratório.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo seco.

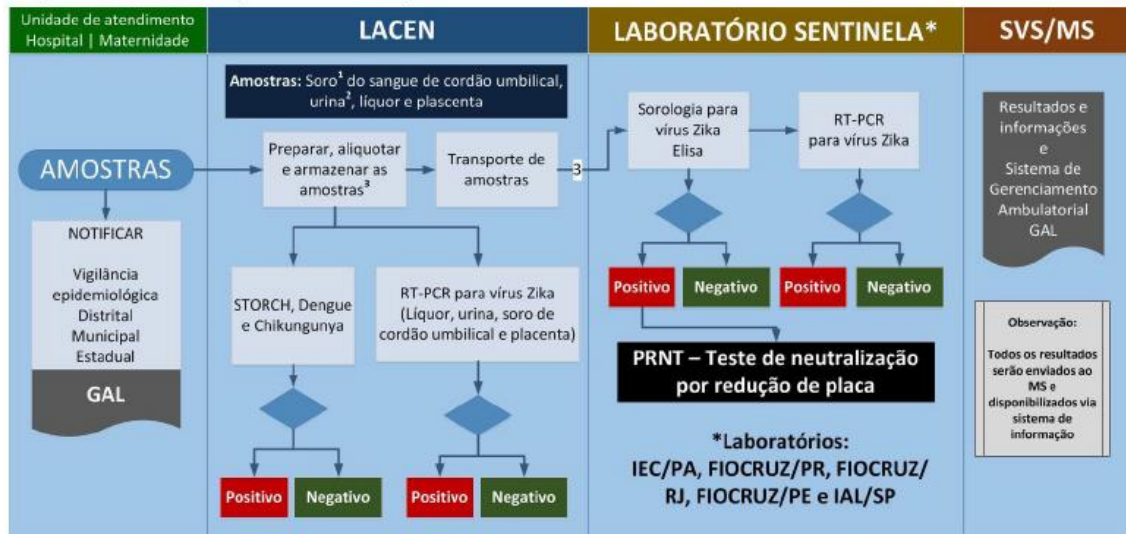
¹ Incluir na remessa a(s) ficha(s) com dados clínicos e epidemiológicos do(s) paciente(s).

Instruções para coleta e encaminhamento de amostras para Diagnóstico Laboratorial (Histopatológico e Imuno-histoquímica) de Natimorto suspeito de Microcefalia

Tipo de Material	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte ¹
Vísceras	Coletar 1cm ³ de cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço do natimorto	Utilizar frasco estéril, com tampa de rosca, contendo formalina tamponada a 10%. Rotular o frasco com o nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em temperatura ambiente.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) <u>SEM GELO</u> . Conservar em temperatura ambiente.

¹ Incluir na remessa a(s) ficha(s) com dados clínicos e epidemiológicos do(s) paciente(s).

Algoritmo laboratorial para amostras suspeitas de microcefalia relacionada ao vírus Zika



1. As amostras de soro devem ser submetidas às análises para Dengue, Chikungunya e STORCH (Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes)
2. As amostras de urina serão coletadas apenas em gestantes para realização de diagnóstico por RT-PCR
3. Lacen que não realizar RT-PCR para vírus Zika, encaminhar ao Laboratório Sentinela de sua área.

Observação: em caso de aborto ou natimorto, coletar 1cm³ de cérebro e fígado e coração e pulmão e rim e baço para realização de RT-PCR e Imuno-histoquímico.