



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

NOTA TÉCNICA N. 01/2016 - GEBIO/LACEN/FSPH

ORIENTAÇÕES PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA A INVESTIGAÇÃO DO VÍRUS INFLUENZA.

Objetivo: Normatizar procedimentos técnicos para coleta, acondicionamento e transporte de amostras clínicas para o diagnóstico do Vírus Influenza em Sergipe.

1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL:

- Imunofluorescência Indireta
- RT-PCR em tempo real

2. TIPOS DE AMOSTRAS PARA A INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL:

- Aspirado de nasofaringe
- Swab de nasofaringe

Obs.: Aspirados de Nasofaringes (ANF) têm um maior teor celular e são superiores aos swabs de Nasofaringe (SNF) no que concerne ao isolamento do vírus Influenza.

3. COLETA DE AMOSTRAS:

- Materiais necessários:
 - Swabs (15 cm) descartáveis com haste flexível e extremidade em poliéster, estéreis, acondicionados individualmente para coleta de espécimes clínicos. *Não deverão* ser utilizados swabs com haste de madeira e/ou com alginato de cálcio (fornecidos pelo Lacen).
 - Tubos cônicos descartáveis de polipropileno, transparentes, volume de 15 ml, com tampa de rosca, estéreis (fornecidos pelo Lacen)
 - Para ANF, coletores plásticos descartáveis de secreções com volume de 20 ml, acoplado a sonda uretral nº 6 ½ e controle de vácuo ARGYLE ou Equipo de soro para administração parenteral com sonda plástica uretral nº 6 estéril.
 - Meio de transporte viral (fornecido pelo Lacen).
 - Caixa isotérmica para transporte do material coletado.

• **Indicação de coleta de amostras:**

- Síndrome Gripal (SG):

A coleta deve ser realizada nas unidades sentinelas mediante o cumprimento da definição de caso, oportunidade de coleta (preferencialmente entre o 3º e 7º dia após o início dos primeiros sintomas). A meta é coletar amostras de

cinco casos de SG por semana epidemiológica em cada unidade sentinela de SG.

- Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG):

A coleta deve ser realizada independente do dia de início dos sintomas em todos os casos de SRAG hospitalizados e óbitos, incluindo os casos em unidade de terapia intensiva (UTI) em unidades de saúde sentinelas da influenza.

- Surto de Síndrome Gripal (SG):

Devem ser coletadas amostras clínicas de no máximo três casos de SG que estiverem preferencialmente entre o 3º e 7º dia após o início dos primeiros sintomas. Sugere-se que a coleta seja feita em casos situados em distintos pontos da mesma cadeia de transmissão. Em situações de surto, as coletas de amostras clínicas devem ser realizadas na unidade de saúde mais próxima ou dentro do próprio ambiente de ocorrência do surto, caso haja condições de minimizar a transmissão do agente infeccioso durante o procedimento.

- **Coleta de aspirado de nasofarinfe (ANF)**

- Com o coletor próprio, aspirar a secreção de nasofaringe das duas narinas. Pode também ser utilizado como coletor um equipo de solução fisiológica, acoplado a uma sonda uretral número 6. A aspiração deve ser realizada com bomba aspiradora portátil ou vácuo de parede; não utilizar pressão de vácuo muito forte.

- Durante a coleta, a sonda é inserida através da narina até atingir a região da nasofaringe, quando então o vácuo é aplicado, aspirando a secreção para o interior do coletor ou equipo (Figura 1). Este procedimento deve ser realizado em ambas as narinas, mantendo movimentação da sonda para evitar que haja pressão diretamente sobre a mucosa, provocando sangramento. Alternar a coleta nas duas fossas nasais até obter um volume de aproximadamente 1 mL de secreção. Pacientes febris apresentam secreção espessa. Após nebulização com soro fisiológico a secreção fica mais fluida, abundante e conseqüentemente mais fácil de ser obtida. Não insistir se a coleta não alcançar o volume desejado (~ 1mL), pois poderá ocasionar lesão de mucosa.



Figura 1: Ilustração da técnica para coleta de aspirado nasofaríngeo

- Após aspirar a secreção nasofaríngea com o coletor próprio, inserir a sonda de aspiração no frasco, contendo 3 mL de meio de transporte viral. Aspirar todo o meio para dentro do coletor. Retirar a tampa com as sondas e desprezar como resíduo biológico. Fechar o frasco coletor utilizando a tampa plástica que se encontra na parte inferior do coletor. Vedar esta tampa com plástico aderente tipo Parafilm e manter refrigerado a 4°C (não congelar). Não havendo disponibilidade de Parafilm, vedar o frasco com esparadrapo.

- Caso a amostra seja coletada com equipo, não deve ser adicionado o meio de transporte viral. O equipo deve ser colocado em saco plástico, lacrado e identificado. Manter refrigerado a 4°C (não congelar).

- As amostras deverão ser encaminhadas ao laboratório, individualizadas em saco plástico, lacrado e identificado adequadamente:

a) nome do paciente,

b) natureza do espécime,

c) data de coleta,

d) cópia da ficha de investigação epidemiológica.

- O transporte do espécime ao laboratório deverá ser realizado no mesmo dia da coleta, em caixa de isopor com gelo e/ou caixa isotérmica para transporte de material. Excepcionalmente, o aspirado poderá ser estocado e preservado, refrigerado a 4°C, por período não superior a 24 h.

- **Coleta de swabs de nasofaringe (SNF) e orofaringe (SOF)**

- Na impossibilidade de utilizar a técnica de ANF, como alternativa, poderá ser utilizada a técnica de SNF e SOF, exclusivamente com swab de Rayon.

- Deverão ser coletados três *swabs*, um *swab* de orofaringe e dois *swabs* de nasofaringe, sendo um de cada narina.

- *Swab* de nasofaringe – A coleta deve ser realizada com a fricção do *swab* na região posterior do meato nasal tentando obter um pouco das células da mucosa (Figura 2A). Coletar *swab* nas duas narinas (um *swab* para cada narina).

- *Swab* de orofaringe – Colher *swab* na área posterior da faringe e tonsilas, evitando tocar na língua (Figura 2B).



Fig. 2A: Swab nasal



Figura 2B: Swab oral

- Após a coleta, inserir os três *swabs* em um mesmo tubo de polipropileno (dar preferência para utilização de frasco plástico tentando evitar a ação da RNase) contendo 3 mL de meio de transporte viral. Lacrar e identificar

adequadamente o frasco. Manter refrigerado a 4°C. Excepcionalmente, estes poderão ser estocados e preservados a 4°C, por período não superior a 72 h.

OBS.: Os *swabs* a serem usados devem ser estéreis e possuir haste de plástico, do tipo Rayon.

Não deverão ser usados *swabs* com haste de madeira e/ou com alginato de cálcio, pois os mesmos interferem nas reações utilizadas para diagnóstico molecular e isolamento de vírus.

4. ACONDICIONAMENTO DE AMOSTRAS

- As amostras não poderão ser congeladas.
- As amostras de secreção respiratória devem ser mantidas em temperatura adequada de refrigeração (4º a 8ºC) e encaminhadas aos Lacen, preferencialmente no mesmo dia da coleta (para realização da Imunofluorescência).

5. TRANSPORTE DE AMOSTRAS:

- O meio de transporte viral (MTV) utilizado é determinante para a garantia de uma boa recuperação dos vírus. Sugere-se que o MTV inclua uma solução salina balanceada com pH neutro e estabilizadores de proteína, como a gelatina ou a albumina sérica bovina (ASB), e antibiótico para reduzir/inibir o crescimento de organismos comensais e bactérias.
- Todas as unidades coletoras (unidades de saúde) deverão encaminhar as amostras ao Lacen **acompanhadas da ficha epidemiológica devidamente preenchida**. As amostras deverão ser colocadas em caixas (térmicas) de paredes rígidas, que mantenham a temperatura adequada de refrigeração (4°C a 8°C) até a chegada ao Lacen.

6. INFORMAÇÕES INERENTES

- As amostras somente serão recebidas pelo setor de recepção de amostras do Lacen se estiverem cadastradas no Sistema Gal, encaminhadas para a Rede e acompanhadas da ficha de notificação devidamente preenchida.
- A imunofluorescência é realizada no Lacen e o RT-PCR em tempo real está sendo realizado no Laboratório de Vírus Respiratórios da Referência Nacional Fundação Oswaldo Cruz – Rio de Janeiro/RJ.
- Todos os resultados serão alimentados no Sistema SIVEP-Gripe assim que forem librados no sistema Gal.

Em casos de dúvidas, entrar em contato com o Lacen nos telefones:
Gerência de Imunologia e Biologia Molecular: (79)3234-6018
Gerência de Coleta e Recepção de Amostras: (79)3234-6007 (Cristiane)

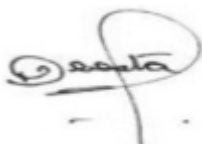
Aracaju, 04 de abril de 2016



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

Aprovo a Nota Técnica N. 01/2016 - GEBIO/LACEN/FSPH

Aracaju, 05 de abril de 2016



Danuza Duarte Costa
Superintendente
FSPH/Lacen/SE