



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

NOTA TÉCNICA N. 01/2017/LACEN/FSPH

Versão 1.0

**ORIENTAÇÕES PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS
PARA A INVESTIGAÇÃO DE FEBRE AMARELA EM HUMANOS
NO ESTADO DE SERGIPE**

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

Obs.: Algumas informações contidas nesta Nota Técnica estão de acordo com o *Protocolo de Investigação Laboratorial para Febre Amarela (MS/SVS/CGLAB)*.

A febre amarela é uma doença viral aguda transmitida por mosquitos infectados. Nas áreas silvestres, os mosquitos do gênero *Haemagogus* e os do gênero *Sabethes* são os vetores da doença. Os sintomas da febre amarela incluem febre, dores de cabeça, icterícia, dores musculares, náuseas, vômitos, fadiga, manifestações hemorrágicas, insuficiência renal e hepática. A doença pode levar a morte, mas um bom tratamento suportivo nos hospitais melhora as taxas de sobrevivência. Não há atualmente nenhum medicamento antiviral específico contra a febre amarela. A Febre amarela pode ser prevenida através da vacinação.

1. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL:

- RT-PCR em Tempo Real, Isolamento viral, Histopatológico/Imunohistoquímica e Sorologia

2. TIPOS DE AMOSTRAS PARA A INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL:

- Soro
- Vísceras

3. COLETA DE AMOSTRAS:

Sorologia

- Deve ser colhido em tubo estéril, hermeticamente fechado ou em tubos à vácuo sem anticoagulante.
- Deve-se coletar o sangue após o 6º (sexto) dia do aparecimento dos primeiros sintomas. O sangue coletado não deve ser imediatamente centrifugado. É necessário aguardar o sangue coagular para separar o soro por centrifugação;
- Centrifugar a 1.500 rpm por 10 minutos, aspirar e transferir o soro para outro tubo limpo/estéril. Se não houver centrifuga, deixar o tubo em repouso na geladeira (2 a 8°C) por um período máximo de 24 horas e encaminhar para o Lacen. **IMPORTANTE:** Não se deve congelar o sangue total, nem encostar o frasco diretamente no gelo reciclável, para evitar hemólise.

Isolamento Viral e RT-PCR:

- Deve ser colhido em tubo estéril, hermeticamente fechado ou em tubos à vácuo sem anticoagulante.
- Pode-se coletar o sangue até o 5º (quinto) dia do aparecimento dos primeiros sintomas. Centrifugar a 1.500 rpm por 10 minutos, aspirar o soro, transferir para um criotubo resistente a baixas temperaturas ($\leq -80^{\circ}\text{C}$), estéril e com tampa de rosca no Lacen. **IMPORTANTE:** Não serão aceitos tubos com tampa tipo rolha para o isolamento viral e RT-PCR.
- Se não houver centrifuga, deixar em repouso na geladeira (2 a 8°C) por um período máximo de 2 horas. Após a sedimentação, transferir para um criotubo resistente a baixas temperaturas ($\leq -80^{\circ}\text{C}$), estéril e com tampa de rosca. A amostra deve ser congelada a -80°C (em *freezer* ou nitrogênio líquido).
- Em casos específicos, a amostra pode ser encaminhada ao Lacen refrigerada, no prazo máximo de 2 horas após a coleta, ou armazenada a -20°C por até 48 horas.

Histopatológico/ Imunohistoquímica

- Devem-se coletar fragmentos de vísceras em frasco estéril com tampa de rosca contendo formalina tamponada 10%. Colocar uma amostra de cada fragmento coletado separadamente, em recipiente estéril, identificada com o nome do paciente e do tipo de fragmento.
- **IMPORTANTE:** Colocar os frascos em caixa térmica sem gelo. Conservar em temperatura ambiente.

4. OBSERVAÇÕES:

- 1- Deve-se coletar preferencialmente amostra para realização de sorologia.
 - 2- Em casos de pacientes graves ou que evoluíram a óbito, coletar amostra para isolamento viral.
 - 3- Toda amostra coletada para isolamento viral, solicitar coleta de segunda amostra, a partir do 6º dia do início dos sintomas, para realização da sorologia.
 - 4- Todas as amostras com suspeita de Febre Amarela são submetidas à sorologia para Dengue.
 - 5- Para amostras coletadas a partir do 5º (quinto) dia do início dos sintomas com resultado não reagente para Febre Amarela será realizado o exame de Leptospirose. Em caso de óbito o exame de leptospirose também será realizado.
 - 6- Em caso de resultados indeterminados ou não reagentes para Febre Amarela em amostras colhidas antes do 6º (sexto) dia de início dos sintomas, solicitar coleta de segunda amostra.
 - 7- Para amostra não reagente para Leptospirose coletada antes de 10 (dez) dias do início dos sintomas, solicitar coleta de segunda amostra para confirmação. A coleta da segunda amostra deverá ser realizada 7 (sete) dias após a data de coleta da primeira.
 - 8- Outras doenças suspeitas serão investigadas somente se solicitado pela SES/SE, mediante fundamentação clínica e epidemiológica.
 - 9- Cada amostra deve ser cadastrada no Gal acompanhada da ficha epidemiológica de notificação compulsória do SINAN, devidamente preenchida com todos os dados solicitados.
- IMPORTANTE: Informar o histórico vacinal do paciente.

- 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;
- Rotular os tubos com nome do paciente, data da coleta e tipo de víscera (no caso de óbito);
- 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:

O Lacen/SE não realiza nenhum teste para Febre Amarela. Todas as amostras são encaminhadas para o Laboratório de Referência, Instituto Adolf Lutz, em São Paulo-SP.

Em casos de dúvidas, entrar em contato com o LACEN no telefone:
Gerência de Imunologia e Biologia Molecular: (79)3234-6018.

Aracaju, 06 de fevereiro de 2017.



Clomar Alves dos Santos
Gerente de Imunologia e Biologia Molecular
FSPH/LACEN/SE

Aprovo a Nota Técnica 01/2017/LACEN/FSPH.

Aracaju, 11 de abril de 2017.



Danuza Duarte Costa
Superintendente
FSPH/Lacen/SE

ANEXO

Exame	Tipo de amostra	Volume/ quantidade	Período de coleta	Acondicionamento	Transporte
Sorologia	- Soro - Soro intracardíaco	3 ml	A partir do 6º dia após o início dos sintomas	Refrigerado (2 a 8 °C)	Caixa térmica com gelo reciclável ou gelo seco
Isolamento viral e RT-PCR	- Soro - Soro intracardíaco	3 ml	Do 1º ao 5º dia após o início dos sintomas	Congelado a -20 °C no período por até 48 horas após a coleta. Após 48 horas da coleta é obrigatória a conservação em freezer -80°C ou botijão de nitrogênio.	Caixa térmica com gelo reciclável ou gelo seco no dia da coleta. Acondicionado em botijão de nitrogênio para envio posterior.
Isolamento viral e RT-PCR	Vísceras <i>in natura</i> (fígado e baço)	Fragmento de 1cm³	Deverá ser realizada o mais rápido possível (no máximo 24 horas após o óbito)	Congelado a -20 °C por até 48 horas após a coleta. Após este período é obrigatória a conservação em freezer -80°C ou botijão de nitrogênio.	Caixa térmica com gelo reciclável ou gelo seco no dia da coleta. Acondicionado em botijão de nitrogênio para envio posterior.
Histopatológico Imuno-histoquímica	Vísceras Em formalina tamponada 10% (Fígado, baço, rim, pulmão, coração, linfonodo)	Fragmentos de 1cm³	Deverá ser realizada o mais rápido possível (no máximo 24 horas após o óbito)	Colocar os fragmentos de vísceras em frasco estéril com tampa de rosca contendo formalina tamponada. Conservar em temperatura ambiente.	Colocar os frascos em caixa térmica sem gelo (temperatura ambiente)

