



**GOVERNO DO ESTADO
DO ESPÍRITO SANTO**
Secretaria da Saúde

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DO ZIKA VÍRUS

**GUIA RÁPIDO DE PROCEDIMENTOS TÉCNICOS
PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E
TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS**

**Vitória/ES
2016**



Paulo César Hartung Gomes
Governador do Estado do Espírito Santo

Ricardo Oliveira
Secretário de Estado da Saúde

Gilsa Aparecida Pimenta Rodrigues
Gerente de Vigilância em Saúde

Anézia Lima Chaves Ribeiro
Coordenadora Geral do Laboratório Central do Estado

Elizabeth Boina Tristão
Chefe do Núcleo de Microbiologia Médica do LACEN



Equipe de Elaboração

Anézia Lima Chaves Ribeiro

Elizabeth Boina Tristão

Isabella Recla Segatto

Joaquim Batista Filho

Luiz Carlos Pedrosa Valli

Mariana Silva Azevedo

Silvia de Cássia Motta Correia



SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	V
1. APRESENTAÇÃO	6
2. ORIENTAÇÕES GERAIS	6
3. ORIENTAÇÕES ESPECÍFICAS	7
3.1. Pacientes com suspeita de infecção pelo ZikaV (sem relação a casos de microcefalia e não gestantes) provenientes de municípios onde ainda não foi confirmado laboratorialmente o diagnóstico de ZikaV, casos graves e/ou internados.	7
3.2. Gestantes e Recém Natos com Microcefalia	8
3.3. Natimorto ou aborto suspeito de Microcefalia	10
3.4. Síntese sobre teste sorológicos e moleculares para ZikaV	11
3.5. Síntese com os casos suspeitos e tipos de exames a serem realizados	11
4. RECEBIMENTO DE AMOSTRAS NO LACEN.....	13
5. REFERÊNCIAS REGIONAIS PARA O ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS EM FREEZER A – 70°C.....	13
5.1. Região Sul.....	14
5.2. Região Metropolitana	14
5.3. Regiões Central e Norte.....	14
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	15



LISTA DE ABREVIATURAS

GAL	Gerenciador de Ambiente Laboratorial
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
NS1	Non Structural 1
RN	Recém-nascido
RT-PCR	Reverse-transcription Polymerase Chain Reaction
SINAN	Sistema de Informação de Agravos de Notificação
STORCH	Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes.
ZIKAV	<i>Zika virus</i>



1. APRESENTAÇÃO

A qualidade das análises laboratoriais depende do cuidado e atenção de todas as unidades requisitantes, dos profissionais envolvidos nos processos das fases pré-analítica, analítica e pós-analítica. Neste contexto, erros na primeira fase, a pré-analítica, comprometem todo o processo, podendo gerar a rejeição de amostras pela triagem de material biológico ou em uma situação mais grave, refletir negativamente nos resultados.

Atendendo a solicitações das unidades por uma informação de fácil consulta e cientes de que a redução dos riscos na fase pré-analítica é obtida com uma boa orientação às equipes de atendimento e coleta, o LACEN elaborou este guia rápido com a finalidade de padronizar procedimentos de coleta, acondicionamento e transporte das amostras biológicas.

2. ORIENTAÇÕES GERAIS

As amostras devem vir acompanhadas da **Ficha de Investigação (SINAN), cadastro impresso do GAL e listagem GAL de exames encaminhados**. A documentação deve ser preenchida em todos os campos e sem rasuras, com caneta esferográfica preta ou azul.

Os recipientes primários (tubos, frascos, potes e outros) contendo as amostras biológicas devem ser devidamente etiquetados, com data da coleta, nome completo e legível do paciente, sem abreviações e de acordo com a documentação. As etiquetas devem ser escritas com caneta esferográfica preta ou azul, ser colocadas retas no corpo do recipiente que contém a amostra, de modo a não encobrir por completo o seu conteúdo. **Nunca** fixar as etiquetas nas tampas dos recipientes.

Para os exames diagnósticos de zika não utilizaremos amostras de sangue total, a unidade solicitante **DEVERÁ CENTRIFUGAR** antes o sangue e enviar apenas o soro. Serão recebidas amostras de soro, líquido, urina e fragmentos de tecidos.



3. ORIENTAÇÕES ESPECÍFICAS

3.1. Pacientes com suspeita de infecção pelo ZikaV (sem relação a casos de microcefalia e não gestantes) provenientes de municípios onde ainda não foi confirmado laboratorialmente o diagnóstico de ZikaV, casos graves e/ou internados.

Método Diagnóstico	Amostras/ Procedimento de Coleta	Quantidade (volume)	Acondicionamento e Conservação	Transporte
Biologia Molecular RT-PCR	Soro Coletar assepticamente em tubo plástico estéril, sem anticoagulante, 10 mL de sangue do paciente Aguardar sua coagulação, centrifugar a 3.000rpm por 10 minutos	3 a 4 mL	Separar o soro em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN	Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta
	Urina	10 ml	Acondicionar em recipiente plástico estéril, com tampa de rosca e boa vedação. Rotular com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN	Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta



3.2. Gestantes e Recém Natos com Microcefalia

Método Diagnóstico	Amostras/ Procedimento de Coleta	Quantidade (volume)	Acondicionamento e Conservação	Transporte
Sorologia	<p>Soro</p> <p>Coletar assepticamente em tubo plástico estéril, sem anticoagulante, 10 mL de sangue da mãe e 2 a 5 mL no caso do Recém-Nascido</p> <p>Aguardar sua coagulação, centrifugar a 3.000rpm por 10 minutos</p>	<p><u>Mãe</u> 3 a 4 mL</p> <p><u>Para o RN</u> 1 a 2 mL</p>	<p>Separar o soro em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 20°C até o momento do envio ao LACEN</p>	Em caixa isotérmica com gelo reciclável
	<p>Soro obtido a partir do sangue do cordão umbilical</p> <p>Coletar 3mL sangue, sem anticoagulante, no momento do nascimento</p> <p>Aguardar sua coagulação, centrifugar a 3.000rpm por 10 minutos</p>	1 a 2 mL	<p>Separar o soro em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 20°C até o momento do envio ao LACEN</p>	Em caixa isotérmica com gelo reciclável
	<p>Líquor</p> <p>Coletar amostra do recém-nascido no momento do nascimento</p>	1 mL	<p>Acondicionar o líquido em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 20°C até o momento do envio ao LACEN</p>	Em caixa isotérmica com gelo reciclável



Biologia Molecular RT-PCR	<p>Soro</p> <p>Coletar assepticamente em tubo plástico estéril, sem anticoagulante, 10 mL de sangue da mãe e 2 a 5 mL no caso do recém-nascido</p> <p>Aguardar sua coagulação, centrifugar a 3.000rpm por 10 minutos</p>	<p><u>Mãe</u> 3 a 4 mL</p> <p><u>Para o RN</u> 1 a 2 mL</p>	<p>Separar o soro em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>
	<p>Líquor</p> <p>Coletar amostra do recém-nascido no momento do nascimento</p>	<p>1 mL</p>	<p>Acondicionar o líquido em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>
	<p>Soro obtido à partir de sangue Cordão Umbilical</p> <p>Coletar o sangue, sem anticoagulante, no momento do nascimento</p> <p>Aguardar sua coagulação, centrifugar a 3.000rpm por 10 minutos</p>	<p>3 mL</p>	<p>Separar o soro em tubo plástico estéril, hermeticamente fechado e identificado com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta. ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>
	<p>Urina</p>	<p>10 mL</p>	<p>Acondicionar em recipiente plástico estéril, com tampa de rosca e boa vedação. Rotular com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra.</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta ou em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>



	<p>Placenta</p> <p>Coletar no momento do nascimento</p>	<p>Fragmento da placenta (3 cm³)</p>	<p>Acondicionar em recipiente plástico estéril, com tampa de rosca. Rotular com nome do paciente, data da coleta e tipo de amostra.</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta.</p> <p>ou</p> <p>em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>
--	--	---	--	---

3.3. Natimorto ou aborto suspeito de Microcefalia

Método Diagnóstico	Amostras/ Procedimento de Coleta	Quantidade	Conservação	Transporte
<p>Biologia Molecular RT-PCR</p>	<p>Coletar fragmentos de cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço do natimorto</p>	<p>Fragmentos de 1 cm³ de cada tecido</p>	<p>Acondicionar em recipiente plástico estéril, com tampa de rosca e boa vedação, sem nenhum tipo de conservante. Colocar os fragmentos de cada víscera em recipientes separados. Rotular com o nome do paciente, data da coleta e a identificação da víscera.</p> <p>Conservar em Freezer - 70°C até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Nitrogênio líquido ou gelo seco até 24h após a coleta</p> <p>ou</p> <p>em caixa isotérmica com Gelo reciclável (transportar imediatamente) até no máximo 6h após a coleta</p>
<p>Histopatológico Imunohistoquímica</p>	<p>Coletar fragmentos de cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço do natimorto</p>	<p>Fragmentos de 1 cm³ de cada tecido</p>	<p>Acondicionar em recipiente plástico estéril, com tampa de rosca e boa vedação, contendo formalina tamponada 10%</p> <p>Conservar em temperatura ambiente até o momento do envio ao LACEN</p>	<p>Transportar em temperatura ambiente em caixa de transporte de amostra biológica SEM GELO</p>



3.4. Síntese sobre teste sorológicos e moleculares para ZikaV

	GESTANTE SEM EXANTEMA COM FETO MICROCEFÁLICO	GESTANTE COM EXANTEMA COM OU SEM FETO MICROCEFÁLICO	RECÉM-NASCIDO COM MICROFEFALIA
SOROLOGIA			
Amostra (volume)	Soro (3 a 4 ml)	Soro (3 a 4 ml)	Soro (1 a 2 ml) Líquor (1 ml)
Número e Período de coleta	Duas coletas <u>1ª coleta:</u> Momento da confirmação da microcefalia do feto <u>2ª coleta:</u> três a quatro semanas após a 1ª coleta	Duas coletas <u>1ª coleta:</u> três a cinco dias após o início dos sintomas <u>2ª coleta:</u> três a quatro semanas após a 1ª coleta	Uma coleta Momento do nascimento
BIOLOGIA MOLECULAR			
Amostra (volume)	-	Soro (3 a 4 ml) Urina (10 ml)	Soro (1 a 2 ml) Soro obtido à partir de sangue cordão umbilical (3 ml) Líquor (1ml) Placenta (fragmento de 3 cm ³)
Número e Período de coleta	-	<u>Soro:</u> até cinco dias após os sintomas <u>Urina:</u> até 8 dias após os sintomas	Uma coleta Momento do nascimento

3.5. Síntese com os casos suspeitos e tipos de exames a serem realizados

GRUPO	EXAME PARA ZIKA	EXAMES PARA OUTRAS DOENÇAS
Pacientes provenientes de municípios sem diagnóstico laboratorial de ZikaV Pacientes graves ou pacientes internados	<u>RT-PCR:</u> - soro: até o 5º dia dos sintomas ou - urina: até o 8º dia dos sintomas	<u>Sorologia</u> Dengue NS1
Gestante com possível infecção pelo ZIKAV durante a gestação (com ou sem filho microcefálico)	<u>RT-PCR e Sorologia (gestante)</u> <u>RT-PCR:</u> - soro: até o 5º dia dos sintomas ou - urina: até o 8º dia dos sintomas <u>Sorologia (2 coletas):</u> - soro: 1ª coleta - 3º ao 5º dia dos sintomas 2ª coleta - após 2 a 4 semanas da 1ª coleta	<u>Sorologia (gestante)</u> Dengue SToRCH ¹ Parvovírus B19 Chikungunya



<p>Feto com alterações do SNC possivelmente relacionada ao ZIKAV durante a gestação</p>	<p>Sorologia gestante (2 coletas): - soro: 1ª coleta – momento da confirmação da microcefalia no feto 2ª coleta - após 2 a 4 semanas da 1ª coleta</p> <p>No parto: Coletar amostras do sangue cordão umbilical, sangue periférico e líquido do bebê e placenta</p>	<p><u>Sorologia (gestante)</u> Dengue SToRCH¹ Parvovírus B19 Chikungunya</p>
<p>Recém-nascido vivo com microcefalia associada ao ZIKAV</p>	<p><u>RT-PCR e Sorologia (RN)</u></p> <p>RT-PCR: a) Placenta E b) Sangue do cordão umbilical ou sangue periférico do bebê E c) Líquor do bebê</p> <p>SOROLOGIA: a) Sangue do cordão umbilical ou sangue periférico do bebê E b) Líquor do bebê</p> <p><u>Sorologia (mãe)</u> a) Soro</p>	<p><u>Sorologia (gestante e RN)</u> Dengue SToRCH¹ Parvovírus B19 Chikungunya</p>
<p>Aborto ou natimorto decorrente de possível associação ao ZIKAV</p>	<p><u>RT-PCR e Imuno-histoquímica (aborto ou natimorto)</u></p> <p>RT-PCR: - 1cm³ dos seguintes órgãos: cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço e - 3cm³ de placenta</p> <p>Imuno-histoquímica: - 1cm³ dos seguintes órgãos: cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço (em formalina tamponada)</p> <p><u>Sorologia (mãe)</u> a) Soro</p>	<p><u>Sorologia (mãe)</u> Dengue SToRCH¹ Parvovírus B19 Chikungunya</p>
<p>Lactente microcefálico nascido após junho/2015 e</p> <p>Lactente que teve anormalidade no crescimento do perímetro cefálico após nascimento e</p> <p>RN normal com mãe que teve quadro suspeito de ZIKAV</p>	<p><u>Sorologia (mãe e bebê)</u></p> <p>- soro (coletar o mais rápido possível)</p>	<p><u>Sorologia (mãe e bebê)</u> Dengue SToRCH¹ Parvovírus B19 Chikungunya</p>



Investigação de Óbitos	<p style="text-align: center;"><u>RT-PCR e Imuno-histoquímica</u></p> <p style="text-align: center;">RT-PCR - Soro - Líquor - 1cm³ dos seguintes órgãos: cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço e</p> <p style="text-align: center;">IMUNO-HISTOQUÍMICA: - 1cm³ dos seguintes órgãos: cérebro, fígado, coração, pulmão, rim e baço em formalina tamponada</p>	<p style="text-align: center;"><u>Sorologia</u> Dengue Chikungunya</p>
------------------------	---	--

1 - STORCH: Sífilis, Toxoplasmose, Rubéola, Citomegalovírus e Herpes.

4. RECEBIMENTO DE AMOSTRAS NO LACEN

O setor de Triagem e recepção de Material Biológico do LACEN funciona no horário de 07 às 17 horas de segunda à sexta-feira.

Nos finais de semana e feriados, as amostras que necessitam de acondicionamento em freezer a -70° C poderão ser encaminhadas as unidades de atendimento referência para as regiões de saúde conforme especificado no item 5.

5. REFERÊNCIAS REGIONAIS PARA O ARMAZENAMENTO DE AMOSTRAS EM FREEZER A – 70°C

É de inteira responsabilidade da unidade solicitante o atendimento as boas práticas laboratoriais na coleta, identificação, acondicionamento e transporte de amostras até a o laboratório de armazenamento, bem como o adequado preenchimento da notificação epidemiológica e do cadastro no GAL conforme protocolo estadual de ZIKAV. Os laboratórios de armazenamento não responderão por problemas com o preenchimento do SINAN, GAL ou identificação inadequada de amostras.

O LACEN entrará em contato com as unidades solicitantes caso haja inadequações nas amostras enviadas para comunicar rejeição ou solicitar a solução dos problemas.



5.1. Região Sul

Laboratório do Hospital Estadual Unidade Integrada Jerônimo Monteiro

Endereço: Rua: Dr Jose Farah, nº: 34, Centro, Jerônimo Monteiro, CEP 29550-001, telefone:(28) 3558-1133.

Contatos: e-mail: uijm.direcaoadm@saude.es.gov.br,

Profissional responsável: Daniel Barros de Oliveira

Municípios atendidos: Alegre, Alfredo Chaves, Anchieta, Apiacá, Atilio Vivacqua, Bom Jesus do Norte, Cachoeiro de Itapemirim, Castelo, Divino de São Lourenço, Dolores do Rio Preto, Guaçuí, Ibitirama, Iconha, Irupi, Itapemirim, Iúna, Jerônimo Monteiro, Marataízes, Mimoso do Sul, Muniz Freire, Muqui, Piúma, Presidente Kennedy, Rio Novo do Sul, São José do Calçado, Vargem Alta.

5.2. Região Metropolitana

Laboratório Central Municipal de Vitória

Endereço: Rua Almirante Barroso, s/nº, 3º Andar, Praia do Suá, Vitória CEP 29.052-170. (Situado no mesmo endereço do PA da Praia do Suá)

Contatos: e-mail: dlcentral@correio1.vitoria.es.gov.br; telefones: (27) 3324-5873,(27) 3137-2766

Profissional responsável: Plantonista do laboratório.

Municípios atendidos: Afonso Cláudio, Brejetuba, Cariacica, Conceição do Castelo, Domingos Martins, Fundão, Guarapari, Ibatiba, Itaguaçu, Itarana, Laranja da Terra, Marechal Floriano, Santa Leopoldina, Santa Maria de Jetibá, Santa Teresa, Serra, Venda Nova do Imigrante, Viana, Vila Velha, Vitória

5.3. Regiões Central e Norte

Hospital e Maternidade Silvio Avidos

Endereço: Rua Cassiano Castelonº: 307 , Centro, Colatina CEP 29.700-070

Contato: 3721-1109.

Profissional responsável: Dr. José Miguel Vieira/ Agência transfusional

**Municípios atendidos:**

Água Doce do Norte, Água Branca, Alto Rio Novo, Aracruz, Baixo Guandu, Barra de São Francisco, Boa Esperança, Colatina, Conceição da Barra, Ecoporanga, Governador Lindenberg, Ibraçu, Jaguaré, João Neiva, Linhares, Mantenópolis, Marilândia, Montanha, Mucurici, Nova Venécia, Pancas, Pedro Canário, Pinheiros, Ponto Belo, Rio Bananal, São Domingos do Norte, São Gabriel da Palha, São Mateus, São Roque do Canaã, Sooretama, Vila Pavão, Vila Valério.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Protocolo de vigilância e resposta à ocorrência de microcefalia relacionada à infecção pelo vírus Zika / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

Espírito Santo. Secretaria de Estado da Saúde. Laboratório Central do Estado. Manual de Procedimentos Técnicos para Coleta, Acondicionamento e Transporte de Amostras Biológicas. Vitória, 2014