GOVERNO DO ESTADO DO PARÁ
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO

NOTA INFORMATIVA Nº 03/2022 – LACEN/DVS/SESPA-REVISADA

Atualização: 16/11/2022

Assunto: PADRONIZAÇÃO DO FLUXO DE INVESTIGAÇÃO E VIGILÂNCIA LABORATORIAL DE SARAMPO E RUBÉOLA.

Este documento tem por objetivo atualizar os procedimentos técnicos a serem realizados nos locais de detecção de casos suspeitos de Sarampo e Rubéola, através da padronização sobre os prazos, critérios de coleta e transporte de amostras que serão processadas na investigação laboratorial que será realizada no LACEN-PA, a fim de garantir o diagnóstico precoce e apoiar as tomadas de decisão para interrupção da cadeia de transmissão do agravo.

1. INTRODUÇÃO

O Sarampo é doença viral infecciosa aguda, causada pelo RNA vírus pertencente ao gênero *Morbillivirus*, família *Paramyxoviridae*, potencialmente grave e extremamente contagiosa, em que até nove em cada dez pessoas suscetíveis com contato próximo a uma pessoa com sarampo desenvolverão a doença.

A Rubéola é doença de etiologia viral, exantemática aguda, causada pelo RNA vírus pertencente ao gênero *Rubivirus*, família *Matonaviridae*, que apresenta alta contagiosidade. Sua importância epidemiológica está relacionada ao risco de abortos, natimortos e à síndrome da rubéola congênita.

Considerando a similaridade do sarampo e da rubéola em termos de apresentação clínica, investigação epidemiológica e diagnóstico laboratorial, desde 2003 é realizada vigilância totalmente integrada do sarampo e da rubéola, analisando as amostras de suspeitos simultaneamente para cada um desses agravos.

O LACEN-PA integra a Diretoria de Vigilância em Saúde/SESPA que, em conjunto ao Ministério da Saúde, visa alcançar a recertificação de eliminação do vírus do sarampo no país, mantido em surto desde a sua reintrodução em 2018, e a manutenção do certificado de eliminação da rubéola, eliminada desde 2015, atuando na investigação e vigilância laboratorial.

No elenco de ações estratégicas para controlar o sarampo e manter a sustentabilidade da eliminação do vírus da rubéola no Brasil é necessário a notificação e investigação dos casos

suspeitos de sarampo e/ou rubéola, e coleta e envio oportunos de amostras pelas Secretarias Municipais de Saúde, em conjunto com as Vigilâncias Epidemiológicas (VE) e Atenção Primária em Saúde (APS), além da cobertura vacinal homogênea da população (FLUXO 1).

2. INDICAÇÃO DE COLETA DE AMOSTRAS

A coleta de amostras biológicas deve ser realizada **em todos os casos suspeitos de sarampo** e/ou **rubéola** no primeiro contato com o paciente (Tabela 1).

Por se tratarem de doenças de notificação compulsória e de extrema relevância para a saúde pública do país, cabe aos laboratórios da rede privada que também realizam o diagnóstico sorológico encaminhar as amostras de casos suspeitos de sarampo ao LACEN-PA para confirmação do diagnóstico e demais providências em caso de sorologia IgM reagente, através da VE municipal.

3. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL (Fluxo 2)

O diagnóstico laboratorial do sarampo no Brasil baseia-se na:

- Detecção do ácido ribonucleico (RNA) viral por meio da reação em cadeia da polimerase (PCR) de amostras de swab nasal, mucosa oral ou urina.
- Detecção da imunoglobulina da clase M (IgM) durante o período exantemático por Enzimaimunoensaio (ELISA – do inglês, enzyme-linked immunosorbent assay);
- Detecção da imunoglobulina da classe G (IgG) ao longo do período de convalescença.

3.1- Sorologia

O teste utilizado como padrão para pesquisa de anticorpos IgM e IgG de sarampo e rubéola na rede de diagnóstico laboratorial é o ELISA, para:

- Detecção de anticorpos IgM: a detecção de anticorpos IgM ocorre na fase aguda da doença, desde os primeiros dias até 30 dias após o aparecimento do exantema.
  Em pessoas suscetíveis expostas ao vírus do sarampo ou da rubéola (seja do tipo selvagem ou uma cepa vacinal), os anticorpos podem ser detectados por aproximadamente um mês, no caso do sarampo, e dois meses, no caso da rubéola.
- Detecção de anticorpos IgG (soroconversão): Em pessoas suscetíveis expostas ao vírus do sarampo ou da rubéola, a produção de IgG começa após a produção de IgM, cerca de 5 a 10 dias após o aparecimento do exantema, persistindo ao longo de toda a vida da pessoa que foi exposta.

Na prática, o diagnóstico laboratorial para sarampo e rubéola é feito com envio de uma amostra de soro (1ª amostra = **S1**), pelos serviços de atendimento ao paciente, e se baseia na determinação de IgM. Deve ser coletada durante a fase aguda da doença (primeiros 7 dias a partir do início do exantema) e ser mantida refrigerada (2 °C a 8 °C) até o momento do envio e durante o transporte ao LACEN-PA, que **deve ser em até 48 horas após coleta**.

Em casos de sorologia IgM reagente ou inconclusiva, é necessário o envio de uma segunda amostra de soro (2ª amostra =**S2**), durante a fase de convalescença da doença, em um intervalo de 15 a 25 dias após a obtenção da primeira amostra de soro, para permitir a medição de um aumento significativo no título de IgG e confirmar os resultados iniciais de IgM. As amostras de S2 são testadas de forma pareada com as amostras de S1 e também se avalia a soroconversão do IgG da S1 e S2.

Nota 1: Em caso de sorologia IgM e IgG não reagente em amostras coletadas precocemente (até 3 dias antes do início do exantema), aconselha-se avaliar o quadro clínico do paciente e caso persista a suspeita, relatar a situação a VE do estado para que a mesma solicite a coleta e envio de uma segunda amostra de soro (2ª amostra =S2) durante a fase de convalescença da doença, em um intervalode 15 a 25 dias após a obtenção da primeira amostra de soro.

Nota 2: Não se aconselha a realização de sorologia IgM e IgG de amostras com mais de 60 dias, exceto quando for solicitado pela VE do estado.

IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS

A identificação do tubo de coleta de soro S1 deve conter o nome do paciente completo, data do nascimento do paciente e data da coleta da S1.

A identificação dos tubos de coleta de soro S2 deve conter o nome do paciente completo data do nascimento do paciente e data da coleta da S2.

3.2- Biologia Molecular

A detecção de RNA por meio de reação em cadeia da polimerase por transcriptase reversa em tempo real (RT-PCR, do inglês reverse-transcriptase polymerase chain reaction) é o teste realizado no Laboratório de Referência Nacional (LRN).

Para esse exame, os serviços de atendimento ao paciente devem obter as seguintes amostras:

- **Amostras das vias aéreas por swab orofaríngeo (SOF) e swabs nasofaríngeo (SNF- narina direita e esquerda)-Coleta Tríplice**. É importante obter uma boa quantidade de células epiteliais (esfregando ou girando o swab sobre o epitélio) para que o vírus possa ser detectado. Os swab's devem ser colocados imediatamente em um tubo contendo meio de transporte viral (MTV).

Nota: As VE municipais, através de suas secretarias, devem solicitar o KIT de coleta tríplice (composto por três swab's e tubo com Meio de Transporte Viral-MTV) por documento oficial físico endereçado a direção do Laboratório, assinado pelo secretário de saúde, podendo ser escaneado e enviado através de e-mail: direcao.lacen@lacen.pa.gov.br. A retirada dos insumos deverá ser feita com prazo mínimo de 72 horas após envio da solicitação, de segunda a sexta-feira, de 08:00 h as 17:00 h, apresentando cópia do documento de solicitação e trazendo caixa térmica contendo gelo recicável em quantidade suficiente para devida conservação do MTV.

- **Urina**: deve-se coletar **15 ml** a **30 ml** de urina (de preferência a 1° urina do dia), do jato médio (desprezar o primeiro jato) e coletar em frasco estéril com tampa rosqueável.

O período ideal para a obtenção das amostras das vias aéreas e de urina é de até 7 dias a partir do aparecimento do exantema. As amostras devem ser mantidas refrigerada (2 °C a 8 °C) até o envio e durante o transporte ao LACEN-PA, que **deve ser em até 24 horas após coleta** (as amostras serão enviadas ao LRN).

3.2.1- Biologia Molecular (caso de óbito)

Em caso de óbito, o vírus do sarampo pode ser identificado em tecidos do corpo. A coleta, nesse caso, deve ser de fragmento de tecido, preferencialmente os seguintes tecidos: pulmão, traqueia e brônquios, **em até 24 horas após o óbito** e conservadas da seguinte forma:

- Acondicionar em frasco estéril de boca larga com tampa rosqueável, com solução salina e congelar a -20ºC, ou em conservante comercial tipo RNA later.
  Enviar imediatamente após a coleta, não sendo possível congelar e **enviar com bastante gelo reciclável em até 72 horas**. Evitar o congelamento e o descongelamento do material.
- Emblocados em parafina. As amostras devem ser mantidas em temperatura ambiente e durante o transporte ao LACEN- PA, que **deve ser em até 08 dias após coleta** (as amostras serão enviadas ao LRN).

3.3- Sequenciamento Genético

Em caso de exames de RT-PCR com resultado detectável e que apresentem o *cicle threshold* (Ct) menor que 30 (aceitável até 38), o LRN realiza a identificação viral por sequenciamento genético.

A vigilância genômica realizada no Brasil é usada para observar as mudanças que ocorrem nos genótipos e nas sequências dos vírus ao longo do tempo em determinado estado ou região.

A determinação do genótipo é a única forma de diferenciar os efeitos de uma vacinaçãorecente de uma infecção por vírus do tipo selvagem. A análise da sequência permite:

1) A identificação do genótipo em casos esporádicos e;
2) O rastreamento das vias de transmissão. Os dados moleculares e epidemiológicos têm sido úteis para as investigações dos surtos por meio da determinação da origem do vírus e obtenção de evidências da interrupção da transmissão de sarampo e rubéola endêmicos.

4. DOCUMENTOS OBRIGATÓRIOS PARA ENVIO DE AMOSTRAS AO LACEN

As amostras para investigação de Sarampo ou Rubéola deverão ser encaminhadas ao LACEN, juntamente com:

- Requisição
- Ficha de Investigação DOENÇAS EXANTEMÁTICAS FEBRIS SARAMPO / RUBÉOLA SINAN, disponível em http://portalsinan.saude.gov.br/images/documentos/Agravos/Exantematicas/Exantematica_v5.pdf , devidamente preenchida (definindo o agravo (1-sarampo ou 2-rubéola), dados clínicos, epidemiológicos)
- Cadastro no GAL:
  Obs1: Sempre cadastrar no Sistema GAL os exames para os dois agravos (Sarampo e Rubéola), mesmo que a suspeita e notificação seja somente para um dos dois.
  Obs2: Se o paciente tiver também sendo investigado para outros agravos, nunca cadastrar Sarampo e Rubéola como exames complementares.

Atenção: Para a segunda amostra não será necessária uma nova notificação, deverá vir acompanhada com a requisição do cadastro no sistema GAL como segunda amostra, com as informações: "*trata-se de caso suspeito de Sarampo ou Rubéola, segunda amostra*". A segunda amostra deve ser cadastrada no GAL com o mesmo número de registro da primeira amostra.

5. CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DE AMOSTRAS

- Amostras sem identificação ou dados incorretos sobre o paciente ou identificação duvidosa.
- Amostras insuficiente, contaminada, hemolisada, congeladas ou não centrifugada (soro).
- Amostras com formulário de notificação tendo divergência em quadro clínico e agravo notificado.
- Amostras sem formulário de requisição do sistema GAL ou sem ficha de notificação.
- Amostras com divergência entre requisição de sistema GAL e ficha de notificação.
- Amostra divergente da metodologia preconizada.
- Amostra fora do prazo preconizado para envio ao LACEN-PA.

6. BUSCA ATIVA LABORATORIAL

Devido às semelhanças entre o quadro clínico das doenças febris exantemáticas na fase prodrômica ou inicial da doença, alguns casos suspeitos de sarampo ou rubéola podem ser detectados e notificados como casos de dengue ou outras doenças por arbovírus.

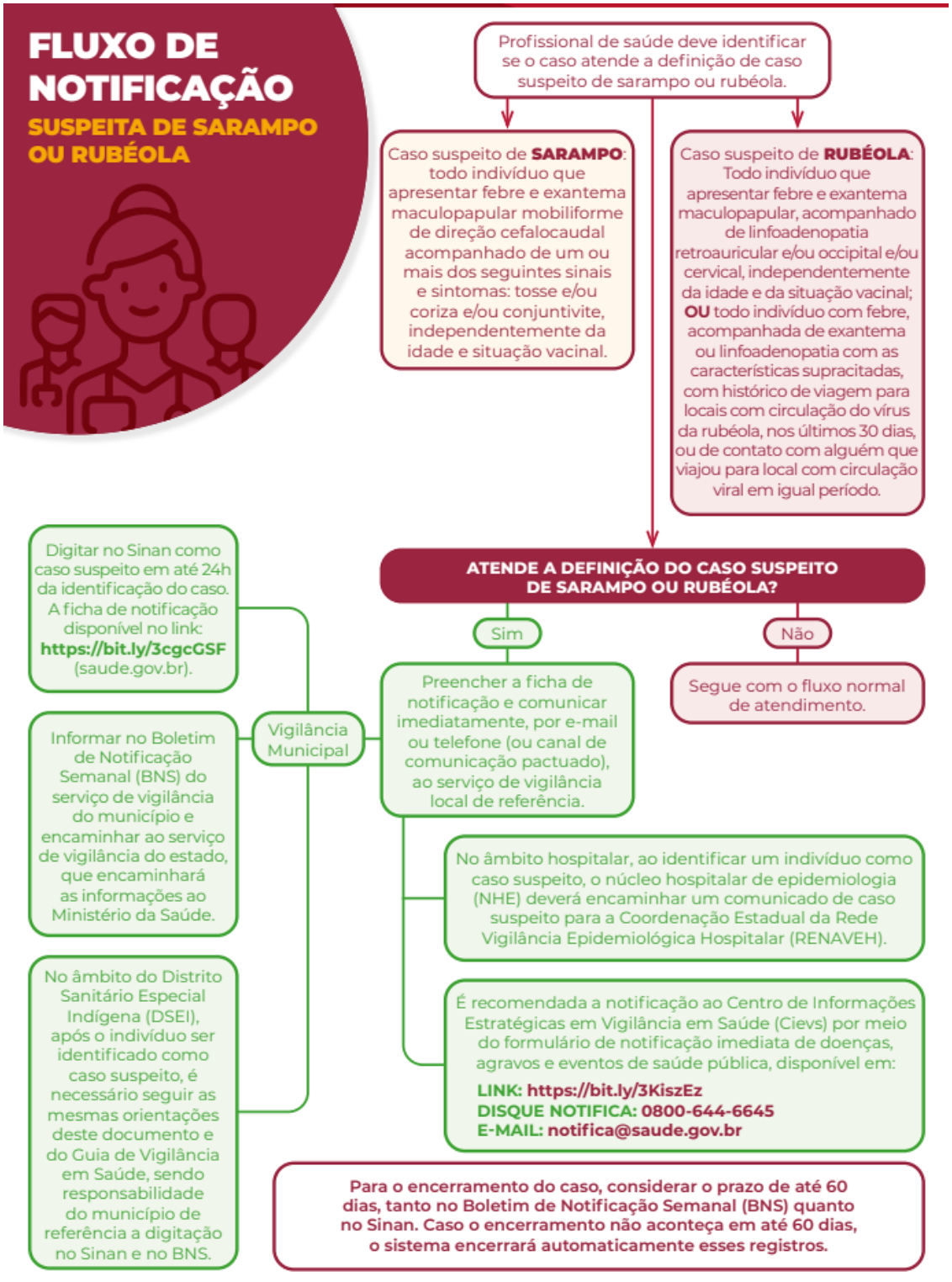
Com isso, durante a fase de eliminação da circulação viral do sarampo e manutenção da eliminação da rubéola, é imprescindível a realização da busca ativa laboratorial (BAL) de sarampo e rubéola em amostras com os seguintes critérios:

- Que apresentarem resultado negativo para as arboviroses (dengue, zika e chikungunya) e;
- Em amostras de casos notificados com sintomas compatíveis com a definição de casos de sarampo ou rubéola, ou pelo menos, febre e exantema ou;
- Em situações definidas em conjunto com a vigilância epidemiológica estadual.

A BAL é realizada na rotina do LACEN-PA, semanalmente, com quantitativo selecionado para análise de, no mínimo, 10% das amostras com os critérios supracitados, dependendo da situação epidemiológica.

GOVERNO DO ESTADO DO PARÁ
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO

FLUXO 1-FLUXO DE NOTIFICAÇÃO



Fonte: MS. Plano de ação para interrupção da circulação do vírus do sarampo : monitoramento e reverificação da sua eliminação no Brasil, 2022.

GOVERNO DO ESTADO DO PARÁ
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO

TABELA 1-Orientações sobre coleta e envio de amostras para investigação laboratorial de Sarampo/Rubéola ao LACEN-PA

Amostra	Material	Coleta	Conservação/Envio	Resultado
1ª amostra- (S1)	**3 ml** a **5 ml** de soro em tubo plástico estéril **sem** anticoagulante ou aditivos	Entre o **1º** e o **30º dia** após o início do exantema.	Conservar refrigerada (2 °C a 8 °C), transportar em estantes em caixa térmica com gelo reciclável e enviar em até 48 horas após a coleta ao LACEN- PA.	04 dias, disponível via GAL.
2ª amostra- (S2)	**3 ml** a **5 ml** de soro em tubo plástico estéril **sem** anticoagulante ou aditivos	Entre o **15 a 25 dias** após a coleta de amostra 1.	Conservar refrigerada (2 °C a 8 °C), transportar em estantes em caixa térmica com gelo reciclável e enviar em até 48 horas após a coleta ao LACEN- PA.	04 dias, disponível via GAL.
Única	Swab orofaríngeo(SOF) e swab's nasofaríngeo (SNF- narina direita e esquerda)	Entre o **1º** e o **7º dia** após o início do exantema.	Acondicionar os 03 swabs em tubo com meio de transportede Hanks. Conservar refrigerada (2 °C a 8 °C), transportar em estantesem caixa térmica com gelo reciclável e enviar em até 24horas após a coleta ao LACEN- PA.	30 dias, disponível via GAL (amostra enviada ao LRN)
Única	**15 ml** a **30 ml** de urina (de preferência a 1° urina do dia), do jato médio (desprezar o primeiro jato) e coletar em frasco estéril com tampa rosqueável.	Entre o **1º** e o **7º dia** após o início do exantema.	Conservar refrigerada (2 °C a 8 °C), transportar em estantesem caixa térmica com gelo reciclável e enviar em até 24horas após a coleta ao LACEN- PA.	30 dias, disponível via GAL (amostra enviada ao LRN)
Única	Fragmentos de tecido, preferencialmente os seguintes tecidos: pulmão, traqueia e brônquios.	Em **até 24 horas** após o óbito.	Conservar em: • Em Soução Salina ou em conservante comercial tipo RNA later- armazenar em frascos de boca larga devidamente fechados. Congelar a -20ºC, e enviar com bastante gelo reciclável em até 72 horas. Não sendo possível congelar, Enviar imediatamente após a coleta. • Emblocados em parafina. Manter em temperatura ambiente e enviar em até 08dias após coleta ao LACEN-PA.	30 dias, disponível via GAL (amostra enviada ao LRN)

Fonte: Adaptado da NOTA TÉCNICA Nº 20/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS.

GOVERNO DO ESTADO DO PARÁ
SECRETARIA DE ESTADO DE SAÚDE PÚBLICA
DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
LABORATÓRIO CENTRAL DO ESTADO

FLUXO 2- FLUXO DE AMOSTRAS PARA INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE SARAMPO/RUBÉOLA AO LACEN-PA

Caso suspeito de Sarampo ou Rubéola

⇩

Coletar amostras no primeiro contato com paciente suspeito.

Swab nasofaríngе/orofaringe e urina -1º ao 7º dia do exantema **e** **Soro- 1º ao 30º dia do exantema**

⇩

Enviar as amostras ao LACEN-PA (notificação e cadastro no GAL)

Swab-coleta tríplice: nasofaringe direita, esquerda e orofaringe.
Urina: 1ª urina, jato médio
Soro: 1ª amostra (S1) e 2ª amostra (S2): após 15 a 25 dias de S1

⇩

LACEN-PA

Realiza **Sorologia** de S1 pela técnica de enzimaimunoensaio (ELISA) para detecção de anticorpos IgM específicos e titulação de anticorpos IgG.

⇩

IgM - /IgG -	IgM - /IgG +	IgM + /IgG +	IgM + /IgG -	IgM inconclusivo /IgG – ou +

⇩

LACEN-PA

Realiza **Sorologia** de S2 pela técnica de enzimaimunoensaio (ELISA) para detecção de soroconversão ou aumento na titulação de anticorpos IgG.

ATENÇÃO

- **Exames com IgM + ou inconclusivos são encaminhados ao LRN para realizar o teste de RT-PCR que busca detectar um fragmento específico do genoma do vírus causador do sarampo.**
- **Exames de RT-PCR com resultado detectável, com cicle threshold (Ct) menor que 30 (aceitável até38), o LRN realiza a identificação viral por sequenciamento genético.**

SESPA/LACEN- Laboratório Central do Estado do Pará- Avenida Augusto Montenegro, 524, Parque Guajará – Belém – Pará – CEP: 66.823-010, Fone: (91) 3202-4902/3202-4920
Email: direcao.lacen@lacen.pa.gov.br

Atenção: o prazo para adequação as orientações descritas acima serão de 30 dias a contar da data de publicação deste documento.

ELABORAÇÃO: Laboratório Central do Estado do Pará – LACEN-PA/2022.

REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde**. Guia de Vigilância em Saúde**. 2021. 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. Acesso em 21/11/2021.

BRASIL. Ministério da Saúde**. Fascículo Busca Ativa e Retrospectiva, 2022**. Disponível em https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/svs/resposta-a-emergencias/sala-de-situacao-de-saude/sala-de-situacao-de-sarampo/publicacoes-tecnicas/fasciculo-busca-ativa-e-retrospectiva/view .Acesso em19/09/2022

BRASIL. Ministério da Saúde**. Plano de ação para interrupção da circulação do vírus do sarampo : monitoramento e reverifcação da sua eliminação no Brasil, 2022**. Disponível em https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/sarampo/plano_acao_sarampo_2022-1.pdf/view .Acesso em19/09/2022

BRASIL. Ministério da Saúde. **NOTA TÉCNICA Nº 20/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS**. Orientações e atualizações referentes ao Fluxo de Diagnóstico Laboratorial do Sarampo e Rubéola atribuídos aos Laboratórios Centrais de Saúde Pública (Lacen), Laboratório de Referência Nacional (LRN) e demais áreas da saúde pública e privada envolvidos nos processos de coleta e diagnóstico destas doenças. Disponível em https://lacen.saude.pr.gov.br/sites/lacen/arquivos_restritos/files/documento/2022-02/sei_ms_-_0025151210_-_nota_tecnica_fluxo_sarampo_rubeola.pdf. Acesso em 08/04/2022.

BRASIL. Ministério da Saúde. Gabinete do Ministro. **PORTARIA GM/MS Nº 420, DE 2 DEMARÇO DE 2022**.Altera o Anexo 1 do Anexo V à Portaria de Consolidação GM/MS nº 4, de 28de setembro de 2017, para incluir a síndrome congênita associada à infecção pelo vírus Zika naLista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos

serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional. Disponível em https://www.in.gov.br/en/web/dou/-/portaria-gm/ms-n-420-de-2-de-marco-de-2022-383578277 . Acesso em 08/04/2022.

LIMA, R.V. NOTA TÉCNICA 20/2022- CGLAB/DAEVS/SVS/MS_Ref. Amostras post-mortem [mensagem pessoal]. Mensagem recebida por <virologia1lacenpa@yahoo.com> 11 de maio de 2022.

OPAS. **Orientações sobre os testes de sarampo e rubéola realizados na rede de laboratórios da Região das Américas**. Organização Pan-Americana da Saúde, 2020. Disponível em https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/53111/9789275719978_por.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Acesso em 08/04/2022.