



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

NOTA INFORMATIVA Nº 01/2024 – LACEN/DVS/SESPA

Atualização: 18/03/2024

ASSUNTO: VIGILÂNCIA LABORATORIAL DE ARBOVIROSES - FORTALECIMENTO DO DIAGNÓSTICO DIRETO POR BIOLOGIA MOLECULAR.

Este documento tem por objetivo atualizar os procedimentos técnicos de coleta e transporte de amostras a serem realizados nos locais de detecção de casos suspeitos de ARBOVIROSES, a fim de que sejam priorizadas as coletas de amostras ainda em fase aguda (1º ao 5º dia de sintomas) dos casos suspeitos de arboviroses, visando garantir o diagnóstico etiológico conclusivo e contribuir com a tomada de decisão sobre o controle e condução do agravo.

1. INTRODUÇÃO

As arboviroses urbanas, por compartilharem diversos sinais clínicos semelhantes tornam os diagnósticos clínicos de difíceis conclusões, pois os sinais e sintomas são semelhantes nos primeiros dias da doença, necessitando do diagnóstico laboratorial específico para a diferenciação dos agentes.

Em um cenário de cocirculação de DENV, ZIKV, CHIKV, MAYV (vírus Mayaro) e OROV (vírus Oropouche) se faz necessária a investigação por métodos diretos para detecção desses vírus, devido a limitação do diagnóstico sorológico, pois existe a possibilidade de reação cruzada por meio da sorologia IgM entre membros da família *Flavivirus* (Zika e Dengue) e ocorrer reações cruzadas em testes sorológicos para Chikungunya com outros membros da família *Alphavirus*, entre eles o vírus Mayaro (MAYV), um arbovírus de circulação silvestre que infecta humanos.

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a dengue é o arbovírus com o maior número de casos na região das Américas, com epidemias ocorrendo a cada três a cinco anos. Em 2022, 2.811.433 casos de dengue foram notificados nessa região, sendo esse o terceiro ano com o maior número de casos na série histórica, ficando atrás apenas dos anos 2016 e 2019, quando houve maior número de casos.

Em 2022 (SE 1 a 52), no Brasil ocorreram 1.450.270 casos prováveis de dengue (aumento de 162,5% dos casos em relação a 2021), com 1.016 óbitos confirmados; ocorreram 174.517 casos prováveis de chikungunya (aumento de 32,4% de casos em relação a 2021), com 94 óbitos confirmados; ocorreram 9.204 casos prováveis de zika (aumento de 42,0% no número de casos), com um óbito por Zika no País. Já os dados de Febre Amarela apontam que entre julho de 2021 e junho de 2022, foram notificados cinco casos confirmados, incluindo quatro óbitos, nos estados do Pará (municípios de Afuá e Oeiras do Pará) e Tocantins (município de São





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

Salvador do Tocantins).

No entanto, no ano de 2022, segundo dados do Sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial (Sistema GAL-LACEN-PA), foram realizados 10.416 exames para arbovírus, sendo que 52 % dos exames foram solicitados/realizados a partir de métodos sorológicos que, por sua natureza, limitam a especificidade para a confirmação do diagnóstico epidemiológico por critério laboratorial.

O Ministério da Saúde (MS), em 2023, instituiu o Centro de Operações de Emergência em Saúde Pública das Arboviroses (COE-Arboviroses), devido ao cenário epidemiológico das arboviroses no País, entre as Semanas Epidemiológicas (SE) 1 a 9, onde os casos de dengue (DENV) e chikungunya (CHIKV), no Brasil, ultrapassaram o limite máximo esperado.

Nesse contexto, o LACEN-PA, Laboratório de Referência Estadual (LRE) para as arboviroses, integrante da Diretoria de Vigilância em Saúde/SESPA, que integrado com a Coordenação Geral de Laboratórios (CGLAB/DAEVS/SVSA/MS), busca o fortalecimento das ações de vigilância epidemiológica e laboratorial das arboviroses urbanas através da caracterização viral e estudos genéticos/genômicos, visando realizar a detecção oportuna da circulação viral, o que propicia aos serviços de vigilância epidemiológica observar o padrão de circulação dos arbovírus.

Assim, faz-se necessário enfatizar a recomendação para que os serviços de saúde estejam sensibilizados sobre a importância da **coleta oportuna de amostras para o diagnóstico etiológico**, sobretudo, durante o período inter-sazonal dessas enfermidades, afim de que sejam priorizadas as coletas de amostras ainda em fase aguda dos casos suspeitos de arboviroses, visando o diagnóstico etiológico conclusivo.

2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Dentro do contexto, para casos de infecção aguda pelos arbovírus é recomendado o diagnóstico laboratorial por Biologia Molecular (RT-qPCR) e Isolamento Viral.

3. INDICAÇÃO DE COLETA DE AMOSTRAS PARA BIOLOGIA MOLECULAR

Conforme recomendação do MS, o paciente deve ter sua amostra para o diagnóstico etiológico para as arboviroses, coletada no primeiro acesso ao sistema de saúde, desde que atenda às definições de caso suspeito, ou seja, se o paciente procura a unidade de saúde dentro dos **cinco primeiros dias de sintomas**, deve ter amostras priorizadas para os testes virológicos e/ou de biologia molecular (FLUXO 1).

São casos prioritários para confirmação laboratorial específica: os primeiros casos de uma





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

área/localidade; os casos de manifestações neurológicas; manifestações atípicas, casos graves e óbitos; idosos; gestantes; recém-nascidos e crianças (primeira infância).

Após a confirmação laboratorial dos primeiros casos de uma área/localidade, os demais casos podem ser confirmados por critério clínico-epidemiológico, exceto os casos prioritários citados acima, que devem ter a suspeição confirmada laboratorialmente.

4. ORIENTAÇÕES DE COLETA, ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS PARA BIOLOGIA MOLECULAR

Preparo do Paciente	Não se aplica.
Tipo de Amostra	2 mL de soro em tubo com gel separador.
Conservação e Transporte	Até 48 horas: - Manter sob refrigeração entre 2°C e 8°C; - Transportar sob refrigeração em caixa térmica com gelo reciclável. Até 7 dias: - Conservar a -20°C; - Transportar em caixa térmica com gelo seco. Após 7 dias: - Conservar a -70°C; - Transportar em caixa térmica com gelo seco.

NOTA 1: Em casos específicos, consultar o “MANUAL DE COLETA LACEN-PA: ORIENTAÇÕES PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA ANÁLISES LABORATORIAIS- 4ª Edição revisada” e suas atualizações, disponível em http://www.saude.pa.gov.br/wp-content/uploads/2023/04/MANUAL_DE_COLETA_DBM_4-ed.pdf.

5. DOCUMENTOS OBRIGATÓRIOS PARA ENVIO DE AMOSTRAS AO LACEN-PA

As amostras para investigação de arboviroses deverão ser encaminhadas ao LACEN-PA, juntamente com:

- Requisição;
- Ficha de Notificação devidamente preenchida, que podem ser, conforme cada caso:
 - FICHA DE INVESTIGAÇÃO DENGUE E FEBRE DE CHIKUNGUNYA SINAN;





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

- VIGILÂNCIA SENTINELA DE DOENÇAS NEUROINVASIVAS POR ARBOVÍRUS SINAN;
- FICHA DE NOTIFICAÇÃO/CONCLUSÃO SINAN- Suspeitos de Zika;
- FICHA DE INVESTIGAÇÃO DE FEBRE AMARELA SINAN;
- Cadastro no sistema GAL:

NOTA 2: Amostras coletadas entre o 1º e o 5º dia do início dos sintomas, cadastrar no sistema GAL, como **Pesquisa de Arbovírus (ZDC)**, metodologia **RT-PCR em tempo real**.

NOTA 3: Amostras coletadas a partir do 6º dia do início dos sintomas, cadastrar no sistema GAL, o agravo (Dengue ou Chikungunya ou Zika), conforme a suspeita clínica, para **pesquisa de IgM**, metodologia **Enzimaimunoensaio**.

6. CRITÉRIOS PARA REJEIÇÃO DE AMOSTRAS

- Amostras sem identificação ou dados incorretos sobre o paciente ou identificação duvidosa.
- Amostras insuficiente, contaminada, hemolisada ou não centrifugada.
- Amostras com formulário de notificação apresentando divergência em quadro clínico e agravo notificado.
- Amostras 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.

7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Das amostras com resultado não detectável para Dengue, Chikungunya e Zika são selecionadas 10%, para o diagnóstico diferencial dos vírus Mayaro e Oropouche, a serem realizados no LACEN-PA.

Outros 10% das amostras com resultado não detectável para Dengue, Chikungunya e Zika são encaminhadas ao Laboratório de Referência (LR), para pesquisa de outras arboviroses.

8. VIGILÂNCIA GENÔMICA

O sequenciamento genético tem sido uma ferramenta essencial para gerar dados genômicos, impulsionar a resposta laboratorial e proporcionar melhor entendimento dos padrões evolutivos e de dispersão de arbovírus que circulam no estado.

É importante destacar que o sequenciamento genético não é um método de diagnóstico e não





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

sendo realizado para a rotina da confirmação laboratorial de casos suspeitos do arbovírus em estudo.

Vale ressaltar que o sequenciamento genético não é uma metodologia indicada para ser feito em 100% dos casos positivos. A seleção vai depender da carga viral contida na amostra, que será conhecida após realização da RT-qPCR.

A análise do resultado do sequenciamento genético permite quantificar e qualificar a diversidade genética viral dos arbovírus circulantes no estado.

8.1. CADASTRO NO SISTEMA GAL DAS AMOSTRAS DE VIGILÂNCIA GENÔMICA

O cadastro no sistema GAL será realizado pelo LACEN-PA, de acordo com os “critérios de seleção das amostras” que consta no Ofício nº 16/2023/CGLAB/DAEVS/SVSA/MS.

8.2. CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DAS AMOSTRAS PARA SEQUENCIAMENTO GENÉTICO DAS ARBOVIROSES URBANAS DE ACORDO COM O OFÍCIO Nº16/2023/CGLAB/DAEVS/SVSA/MS

- Amostras de pacientes com valor de CT ≤ 30 , E
- Amostras de pacientes que evoluíram para Óbito; OU
- Amostras de pacientes que apresentaram sinais/sintomas neurológicos; OU
- Amostras de pacientes que apresentaram clínica diferenciada (sinais/sintomas de gravidade); OU
- Amostras de pacientes com resultados de exames "inclusivos" ou “não-sorotipadas” por diagnóstico molecular, em caso de DENV.

9. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico 1: Monitoramento dos casos de arboviroses até a semana epidemiológica 52 de 2022**. Volume 54. Janeiro, 2023. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2023/boletim-epidemiologico-volume-54-no-01/view>. Acesso em 02/02/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico 13: Monitoramento das arboviroses urbanas: semanas epidemiológicas 1 a 35 de 2023**. Volume 54. Novembro, 2023. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/boletins/epidemiologicos/edicoes/2023/boletim-epidemiologico-volume-54-no-13/view>. Acesso em 18/02/2024.





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

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de Vigilância em Saúde: volume 2** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde e Ambiente. – 6. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2023. 3 v. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/svsa/vigilancia/guia-de-vigilancia-em-saude-volume-2-6a-edicao/view>. Acesso em 04/02/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância Sentinela de Doenças Neuroinvasivas por Arbovírus. 2017.** Disponível em https://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_sentinela_doencas_arbovirus.pdf. Acesso em 22/01/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **NOTA TÉCNICA Nº 13/2023-CGLAB/DAEVS/SVS/MS.** Nota Técnica CGLAB para o fortalecimento das ações de vigilância laboratorial e genômica definidas no Centro de Operações de Emergência (COE) Arboviroses. Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/svsa/resposta-a-emergencias/coes/arboviroses/notas-informativas>. Acesso em: 08/02/2024

BRASIL. Ministério da Saúde. **NOTA TÉCNICA Nº 427/2021-CGLAB/DAEVS/SVS/MS.** Nota Técnica Conjunta CGLAB/CGARB para o fortalecimento e priorização de coleta de amostras para diagnóstico laboratorial direto de arboviroses. Disponível em https://www.cosemssc.org.br/wp-content/uploads/2022/09/NOTA_TECNICA_427.pdf. Acesso em 22/01/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. **PLANO DE CONTINGÊNCIA PARA RESPOSTA ÀS EMERGÊNCIAS EM SAÚDE PÚBLICA POR DENGUE, CHIKUNGUNYA E ZIKA. 2022.** Disponível em <https://www.gov.br/saude/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/publicacoes-svs/dengue/plano-de-contingencia-para-resposta-as-emergencias-em-saude-publica-por-dengue-chikungunya-e-zika> Acesso em 22/01/2023.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DE SAÚDE/ ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. **Alerta epidemiológico: Febre amarela, 31 de agosto de 2022**, Washington, D.C.: OPAS/OMS; 2022. Disponível em <https://www.paho.org/pt/documentos/alerta-epidemiologico-febre-amarela-31-agosto-2022> . Acesso em 22/01/2023.

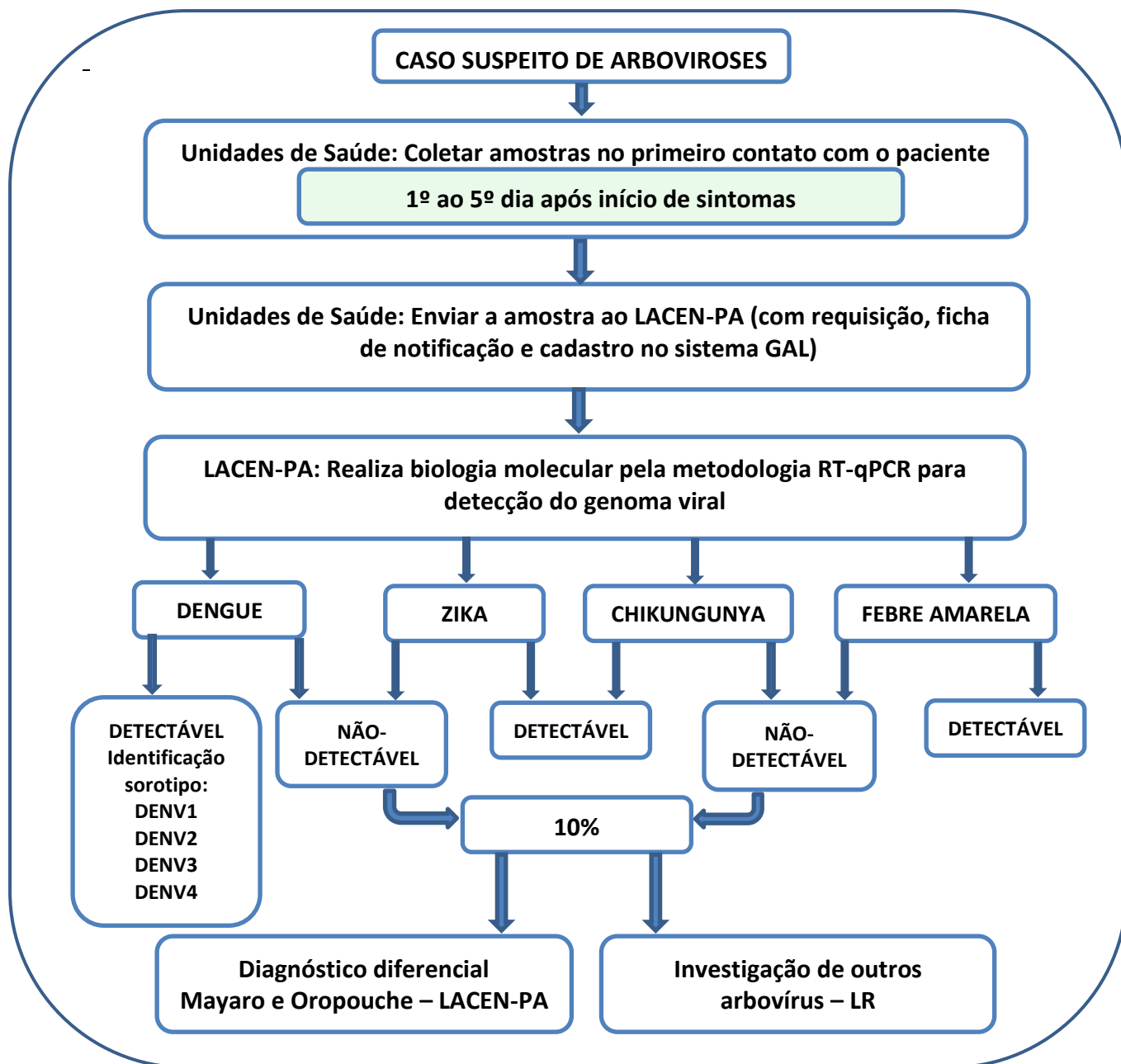
ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD. **Recomendaciones para la detección y el diagnóstico por laboratorio de infecciones por arbovirus en la Región de las Américas.** Washington, D.C.; 2022. Disponível em https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/56321/9789275325872_spa.pdf?sequence=1&isAllowed=y . Acesso em 22/01/2023.





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

FLUXO 1- FLUXO DE AMOSTRAS PARA INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DE ARBOVIROSES POR BIOLOGIA MOLECULAR AO LACEN-PA



Fonte: Elaborado pelo próprio autor

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

ELABORAÇÃO: Laboratório Central do Estado do Pará – LACEN-PA/DVS/SESPA/2024.

