



NOTA INFORMATIVA CONJUNTA n° 004/2018 - DIVE/LACEN/SUV

Assunto: Atualização das informações referentes ao diagnóstico laboratorial de casos suspeitos, de forma a complementar ao manual “Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de importância nacional - Procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS”

1. Características gerais

As anomalias identificadas no nascimento compõem um grupo diversificado de distúrbios de origem pré-natal que podem ser causados por defeitos de um único gene, transtornos cromossômicos, herança multifatorial, teratógenos ambientais e deficiências de micronutrientes, afetando a forma, a estrutura e/ou função de órgãos, células ou componentes celulares. Podem surgir em qualquer fase do desenvolvimento fetal, independentemente de terem sido ou não detectados durante a gestação.^{1,2} Doenças maternas como *diabetes mellitus*, condições como deficiência de iodo e ácido fólico e exposição a medicamentos e drogas recreativas, incluindo álcool e tabaco, além de certas substâncias químicas, traumas e altas doses de radiação também podem causar defeitos congênitos.³ A faixa etária mais acometida no período são os menores de 1 ano e, dentre estes, os menores de 6 meses que possuem maior risco de evoluírem para óbito. No ano de 2011, foi registrado a maior taxa de letalidade (8,3%), e os últimos registros de óbito no estado são de 2014.⁴

2. Doenças transmissíveis durante a gestação

Algumas doenças transmissíveis, quando ocorrem durante a gestação, podem ser transmitidas para o feto pela placenta ou pelo canal do parto. A placenta é uma barreira natural contra infecções no feto. Alguns desses agentes, apesar de não terem ocasionado doença na mãe, podem se manifestar no feto com quadros leves, graves e até fatais, levando ao óbito fetal.²

Até 2015, os patógenos mais frequentemente relacionados às infecções intrauterinas eram a bactéria *Treponema pallidum* que causa a sífilis (S), o protozoário *Toxoplasma gondii* que causa a toxoplasmose (TO) e os vírus da rubéola (R), citomegalovírus (C), vírus herpes simplex (H), compondo o acrônimo STORCH.^{2,5} A partir da epidemia de vírus Zika, que afetou gravemente o nordeste do Brasil no primeiro semestre de 2015, médicos da região observaram a forte associação de malformações congênitas e condições neurológicas com a infecção pelo vírus Zika durante a gestação, levantando à necessidade do monitoramento integrado das malformações congênitas decorrentes de infecções durante a gestação e ampliando o acrônimo STORCH com adição do vírus Zika (Z) – STORCH+Zika.^{6,7}

3. Investigação e notificação

O Ministério da Saúde apresenta no livro “Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional” as novas definições operacionais para notificação, investigação, classificação e acompanhamento de fetos, recém-nascidos e crianças, desde o pré-natal até a primeira infância. Todas essas informações devem ser acessadas por meio do link abaixo:

<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2016/dezembro/12/orientacoes-integradas-vigilancia-atencao.pdf>

Esta nota visa atualizar as instruções para coleta de amostras para diagnóstico laboratorial de casos suspeitos de Síndrome Congênita pelo vírus Zika e outras etiologias no estado de Santa Catarina.

O diagnóstico laboratorial específico (padrão ouro) para o vírus Zika baseia-se principalmente na detecção do material genômico viral (RNA) por testes moleculares (RT-

qPCR) presente no período virêmico, que compreende de 4 até 7 dias após o início de sintomas.

4. Orientações para coleta de amostras laboratoriais em recém-nascidos (RN) até o 8º dia de vida.

RN até o 8º dia de vida, com suspeita de microcefalia e/ou alteração do sistema nervoso central, ou aqueles sem malformações evidentes ao nascer, cujas mães tiveram diagnóstico de infecção por STORCH e/ou infecção pelo vírus Zika (laboratorial ou clínico epidemiológico) confirmado, deverão ter amostras de sangue (podendo ser sangue do cordão umbilical) e urina coletados, preferencialmente nas primeiras 48 horas do nascimento, simultaneamente, para realização da sorologia (STORCH+Z) e RT-qPCR para vírus Zika, conforme orientações de coleta no quadro 1.

5. Orientações para coleta de amostras laboratoriais de casos tardios de microcefalia e/ou alteração do sistema nervoso central em crianças até 3 anos de idade.

RN após o 8º dia de vida e crianças até 3 anos de idade, com microcefalia e/ou alteração do sistema nervoso central, mesmo que tardias, e que NÃO tiveram amostras coletadas nas primeiras 48 horas de vida, deverão ter amostra de sangue coletada apenas para realização da sorologia (STORCH + Z), conforme quadro 1. Neste caso, não será possível definir se a infecção pelo vírus Zika é congênita ou adquirida.

Nos casos em que a criança apresentar sintomas clínicos compatíveis com a fase aguda da infecção pelo vírus Zika, independentemente da idade, deve ter amostra coletada para realização de RT-qPCR e sorologia para STORCH+Z, conforme orientações do Quadro 1.

Quadro 1. Orientações para coleta de amostras laboratoriais em recém-nascidos até o 8º dia de vida e crianças até 3 anos de idade

Método diagnóstico	Amostra biológica	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte
Biologia Molecular - RTq PCR zika vírus	Sangue/ Soro	<ul style="list-style-type: none"> Coletar sangue em tubo (5 mL) sem anticoagulante com gel separador (tampa amarela); Aguardar 30 minutos a temperatura ambiente para retração do coágulo; Centrifugar para separação do soro a 3000 rpm – por 10 minutos; <p>Pode ser sangue obtido do cordão umbilical no momento do nascimento.</p>	<ul style="list-style-type: none"> Até 48 horas após a coleta, pode permanecer refrigerado entre 2 e 8°C no tubo original de coleta. Após 48 horas de coleta, o soro deve ser separado para criotubo livre de DNase e RNase e congelado a -70°C. 	<ul style="list-style-type: none"> Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. Transportar nas mesmas condições de armazenamento: <p>Obs: Até 48 horas após a coleta, pode ser transportado com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada), deve ser utilizado gelo seco.</p>
	Urina	<ul style="list-style-type: none"> Coletar 5 ml de urina em coletor infantil ou em pote com boca larga e tampa rosqueável estéril. 	<ul style="list-style-type: none"> Acondicionar a urina em tubo estéril de plástico tipo falcon (livre de DNase e RNase) preferencialmente. Opcionalmente, enviar o coletor ou urina no frasco de coleta com tampa rosqueável bem vedada para evitar vazamento. Pode permanecer até 48 horas refrigerada entre 2 e 8°C. Acima de 48 horas deve ser congelada a -70°C. 	<ul style="list-style-type: none"> Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. Transportar nas mesmas condições de armazenamento: <p>Obs: Até 48 horas após a coleta, pode ser transportado com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada) deve ser utilizado gelo seco.</p>
Imunologia Sorologia- Sífilis, Toxoplasmose Rubéola, Citomegalovírus, herpes simplex e Zika vírus (STORCH+Z)	Sangue/ Soro	<p>Coletar sangue em tubo (5 mL) sem anticoagulante com gel separador (tampa amarela); Pode ser coletado sangue do cordão umbilical;</p> <p>Aguardar 30 minutos a temperatura ambiente para retração do coágulo;</p> <ul style="list-style-type: none"> Centrifugar para separação do soro a 3000 rpm – 10 minutos; 	<ul style="list-style-type: none"> Amostra de soro no tubo original de coleta pode permanecer até 5 dias refrigerada entre 2 e 8°C. Acima de cinco dias, soro deve ser separado para criotubo simples e congelado a -20°C. 	<ul style="list-style-type: none"> Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. Transportar nas mesmas condições de armazenamento: <p>Obs: Até 48 horas após a coleta, pode ser transportado com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada) deve ser utilizado gelo seco</p>

6. Orientações para coleta de amostra laboratorial em gestantes (em qualquer período gestacional)

- Gestante com suspeita de **infecção aguda pelo vírus Zika** deve ter amostra coletada para realização de RT-qPCR e sorologia para STORCH+Z, conforme orientações do Quadro 2.
- Gestante com suspeita de infecção por STORCH, ou que apresente em exame de imagem, feto com microcefalia ou alteração no sistema nervoso central, deve ter amostra de sangue coletada para realização da sorologia para STORCH+Z, conforme orientações do Quadro 2, na intenção de auxiliar o diagnóstico de possível síndrome congênita no feto/RN.

Quadro 2. Orientações para coleta de amostras laboratoriais para gestantes em qualquer período gestacional

Método diagnóstico	Amostra biológica	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte
Biologia Molecular RTqPCR – zika vírus- (fase aguda, na presença de sinais e sintomas)	Sangue/ Soro	<ul style="list-style-type: none"> • Coleta somente até o 5º dia de sintomas, preferencialmente. • Coletar sangue em tubo (5 mL) sem anticoagulante com gel separador (tampa amarela); • Aguardar 30 minutos a temperatura ambiente para retração do coágulo; Centrifugar para separação do soro a 3000 rpm – por 10 minutos; 	<ul style="list-style-type: none"> • Até 48 horas após a coleta, pode permanecer refrigerado entre 2 e 8°C no tubo original de coleta. • Após 48 horas de coleta, soro deve ser separado para criotubo livre de DNase e RNase e congelado a -70°C. 	<ul style="list-style-type: none"> • Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. • Transportar nas mesmas condições de armazenamento: Até 48 horas, pode ser transportado com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada) deve ser utilizado gelo seco.
	Urina	<ul style="list-style-type: none"> • Coleta deve ser realizada até o 14º dia após início de sintomas. Coletar 5 ml de urina em coletor infantil ou em pote com boca larga e tampa rosqueável estéril. 	<ul style="list-style-type: none"> • Acondicionar a urina em tubo estéril de plástico tipo falcon (livre de DNase e RNase) preferencialmente. • Opcionalmente, enviar o coletor ou urina no frasco de coleta com tampa rosqueável bem vedada para evitar vazamento. • Pode permanecer até 48 horas refrigerada entre 2 e 8°C. • Acima de 48 horas deve ser congelada a -70°C. 	<ul style="list-style-type: none"> • Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. • Transportar nas mesmas condições de armazenamento: Até 48 horas, pode ser transportada com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada) deve ser utilizado gelo seco.
Imunologia Sorologia- Sífilis, Toxoplasmose Rubéola, Citomegalovírus, herpes simplex e Zika vírus (STORCH+Z)	Sangue/ Soro	<ul style="list-style-type: none"> • Coletar sangue em tubo (5 mL) sem anticoagulante com gel separador (tampa amarela); • Aguardar 30 minutos a temperatura ambiente para retração do coágulo; • Centrifugar para separação do soro a 3000 rpm – 10 minutos; 	<ul style="list-style-type: none"> • Amostra de soro no tubo original de coleta pode permanecer até 5 dias refrigerada entre 2 e 8°C. • Acima de cinco dias, soro deve ser separado para criotubo simples e congelado a -20°C. 	<ul style="list-style-type: none"> • Acondicionar o material na vertical em caixa de transporte de amostras biológicas. • Transportar nas mesmas condições de armazenamento: Até 48 horas, pode ser transportado com gelo reciclável. Para mais de 48 horas (amostra congelada) deve ser utilizado gelo seco.

7. Orientações para coleta de amostra laboratorial em casos de óbito fetal, natimorto, óbito neonatal precoce ou aborto

Todo óbito (aborto espontâneo, óbito fetal, natimorto ou óbito após o nascimento) de mãe **COM relato de exantema ou febre durante a gestação e sem causa definida ou mãe com diagnóstico para vírus Zika** deverá ser coletado fragmentos de placenta, conforme Quadro 3 para realização de imunohistoquímica e RT-qPCR para vírus Zika.

Quadro 3. Óbito fetal, natimorto, óbito neonatal precoce ou aborto

Método diagnóstico	Amostra biológica	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte
RT – qPCR para pesquisa de zika vírus	Placenta	Coletar 3x3cm da placenta no momento do nascimento.	Da amostra coletada, obter 3 fragmentos “in natura” (dimensões de 1 cm ³ cada) e transferir para frasco com tampa de rosca estéril, resistente à baixa temperatura (criotubo) e sem conservantes. Rotular os frascos com nome do paciente, a data de coleta e identificação do material (placenta). Conservar em freezer a -20 ou -70°C (preferencialmente) até o envio ao Lacen.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (categoria B UN/3373) com gelo seco.
Imunohistoquímica para pesquisa de Zika vírus	Placenta	Coletar 3x3cm da placenta no momento do nascimento.	Acondicionar toda a amostra em um frasco estéril, com tampa de rosca, contendo formalina tamponada a 10%. Rotular o frasco com o nome do paciente, a data de coleta e o material (placenta). Conservar em temperatura ambiente.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (categoria B UN/3373) sem gelo.

8. Cadastramento da requisição, armazenamento e transporte de amostras biológicas ao LACEN SC.

- Todas as amostras deverão ser cadastradas no sistema Gerenciador de Ambiente Laboratorial – GAL, com todas as informações requeridas e informações adicionais que devem ser digitadas no campo “observações”.

- Na requisição do GAL devem constar informações sobre os sintomas apresentados pelo paciente no momento da coleta ou no período gestacional, bem como os deslocamentos e vínculos.
- Dados da solicitação:
Finalidade: Investigação

Descrição: Zika
- Amostras de sangue (soro) e urina para RT-qPCR – cadastrar a pesquisa Microcefalia – Biologia Molecular
- Pesquisas/exames: Amostras de sangue (soro) para sorologia STORCH + Z – cadastrar pesquisa Microcefalia – Sorologia.
- Ressaltamos a necessidade da observância das orientações contidas no Manual de Orientação para Coleta, Transporte e Acondicionamento de Amostras Biológicas, disponível em <http://lacen.saude.sc.gov.br>, na seção “Documentos”.
- Todos os frascos contendo material biológico deverão ser identificados com nome do RN e da mãe. Identificar o tipo de tecido contido no frasco e a forma de conservação (se formalina a 10% em temperatura ambiente ou se material “*in natura*” a -20°C), em caso de coleta de material de placenta.

9. Referências

1. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Birth defects surveillance: a manual for programme managers. Geneva, 2014.
2. WRIGHT, H. T. Congenital anomalies and viral infections in infants: the etiologic role of maternal viral infections. California Medicine, [S.l.], v. 105, p. 345-351, 1966.
3. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Outbreak Alert and Response Network (GOARN): collaboration of existing institutions and networks, constantly alert and ready to respond. 2016. Disponível em: Acesso em: 31 out. 2016.
4. BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Orientações integradas de vigilância e atenção à saúde no âmbito

da Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional: procedimentos para o monitoramento das alterações no crescimento e desenvolvimento a partir da gestação até a primeira infância, relacionadas à infecção pelo vírus Zika e outras etiologias infecciosas dentro da capacidade operacional do SUS/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde.

Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

5. FORD-JONES, E. L. An approach to the diagnosis of congenital infections. *Paediatrics & Child Health*, [S.l.], v. 4, p. 109-112, 1999.
6. VENTURA, C. V. et al. Ophthalmological findings in infants with microcephaly and presumable intra-uterus Zika virus infection. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, São Paulo, v. 79, n. 1, p. 1-3, jan./fev. 2016.
7. ARAÚJO, T. V. B. de et al. Association between zika virus infection and microcephaly in Brazil, January to May, 2016: preliminary report of a case-control study. *The Lancet Infectious Diseases*, [S.l.], v. 3099, p. 1-8, 2016.

Florianópolis, 17 de outubro de 2018.

**Laboratório Central de Saúde Pública
LACEN/SUV/SES/SC**

**Diretoria de Vigilância Epidemiológica
DIVE/SUV/SES/SC**

ANEXO
FLUXOGRAMA PARA COLETA DE AMOSTRAS LABORATORIAIS



