



GOVERNO DO ESTADO DE MINAS GERAIS

Secretaria de Estado de Saúde

Coordenação Estadual de Laboratórios e Pesquisa em Vigilância - SUBVS

Nota Técnica nº 3/SES/SUBVS-CELP/2023

PROCESSO Nº 1320.01.0047359/2023-50

Nota técnica conjunta – Coordenação Estadual de Laboratórios e Pesquisa em Vigilância (CELP), Centro de Informações Estratégicas em Vigilância em Saúde (CIEVS – Minas), Coordenação Estadual de Vigilância das Arboviroses (CEVARB) e Laboratório Central de Saúde Pública de Minas Gerais – Fundação Ezequiel Dias (Lacen-MG/Funed)

Assunto: Coleta de amostras para vigilância laboratorial das arboviroses no Lacen-MG/Funed e nos Centros Colaboradores habilitados na rede.

1. CENÁRIO EPIDEMIOLÓGICO DAS ARBOVIROSES EM MINAS GERAIS, 2023

Arboviroses são as doenças causadas pelos arbovírus, que incluem os vírus da dengue, chikungunya, Zika e febre amarela. No ano de 2023, o estado de Minas Gerais registrou até o momento um total de 138.141 casos prováveis de arboviroses, sendo 76,3% de dengue, 23,6% de chikungunya e 0,1% de zika.

Quanto a febre amarela, no período de monitoramento atual, que vai de julho de 2022 a junho de 2023, foram notificados 54 casos em seres humanos, destes, 44 foram descartados, um caso foi confirmado e oito seguem em investigação, sendo que quatro destes já foram descartados laboratorialmente aguardando atualização no Sinan pelo município de residência.

Considerando o atual cenário epidemiológico, há co-circulação de arbovírus no estado de Minas Gerais, havendo atualmente municípios que apresentam alta e muito alta incidência de casos de dengue e Chikungunya, demonstrado na figura 1.

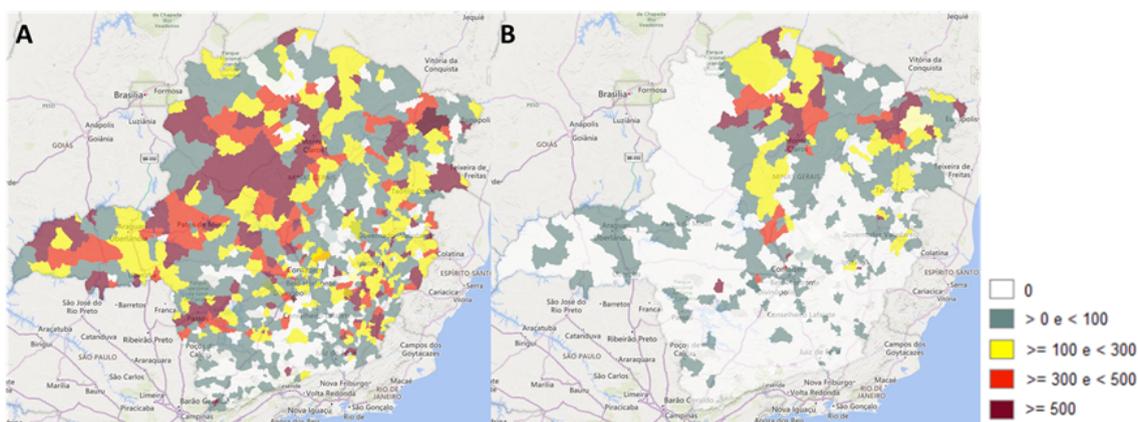


Figura 1: Distribuição de incidência de casos prováveis de dengue e chikungunya nos 853 municípios do território de Minas Gerais, no ano de 2023, nas semanas epidemiológicas 8, 9, 10 e 11. Figura A: distribuição dos casos prováveis de dengue. Um total de 73 municípios mineiros apresentam alta incidência e 102 apresentam muito alta incidência. Figura B: distribuição dos casos prováveis de chikungunya. Um total de 10 municípios mineiros apresentam alta incidência e 22 apresentam muito alta incidência.

Segundo o Guia de Vigilância em Saúde (Ministério da Saúde, 5ª edição, 2022): *“Na impossibilidade de realização de confirmação laboratorial específica ou para casos com resultados laboratoriais inconclusivos, deve-se considerar a confirmação por vínculo epidemiológico com um caso confirmado laboratorialmente, após avaliação da distribuição espacial dos casos confirmados.”* Esse critério de confirmação poderá ser utilizado exceto nos primeiros casos da área, que deverão ter confirmação laboratorial por métodos diretos.

2. OBJETIVO DA NOTA TÉCNICA:

Estabelecer critérios para coleta e encaminhamento de amostras para vigilância laboratorial das arboviroses – Dengue, Febre de Chikungunya, Zika e Febre Amarela – em Minas Gerais, durante o período sazonal 2022/2023.

3. INVESTIGAÇÃO LABORATORIAL DAS ARBOVIROSES:

3.1. Metodologias laboratoriais

O diagnóstico laboratorial das arboviroses pode ser realizado através de métodos sorológicos (pesquisa de IgM/IgG e, exclusivamente para dengue, a pesquisa de antígeno NS1 pela técnica ELISA de captura), por métodos de detecção viral ou do genoma viral (isolamento viral ou RT-PCR) e por exames anatomopatológicos (imunohistoquímica e histopatológico).

Atualmente, as abordagens disponíveis são:

Arbovirose	Métodos de investigação laboratorial padronizados no Lacen-MG	Método padronizados nos Centros Colaboradores**
Dengue	Sorologia (ELISA IgM) Biologia molecular (PCR) Isolamento viral Histopatológico e imunohistoquímica (em casos de óbitos)	Biologia molecular (PCR)

Chikungunya	Sorologia (ELISA IgM e IgG) Biologia molecular (PCR) Isolamento viral Histopatológico e imunohistoquímica (em casos de óbitos)	Biologia molecular (PCR)
Zika	Sorologia: ELISA IgM e IgG Biologia Molecular (PCR)	Biologia molecular (PCR)
Febre Amarela	Sorologia (ELISA IgM) Biologia molecular (PCR) Isolamento viral Histopatológico e imunohistoquímica (em casos de óbitos)	Biologia molecular (PCR)

**Centros Colaboradores atualmente habilitados e em operação para diagnóstico das arboviroses: (1) Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus Jequitinhonha – região referenciada: macrorregião de saúde Jequitinhonha; (2) Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri (UFVJM) campus Mucuri – região referenciada: macrorregião de saúde Nordeste; (3) Núcleo de Ações e Pesquisa em Apoio Diagnóstico (Nupad) da Faculdade de Medicina da UFMG – região referenciada: microrregião de saúde Contagem/Sarzedo/Ibirité.

3.2. Critérios para coleta de amostra e definição da metodologia de diagnóstico

3.2.1. Dengue

Considerando o cenário epidemiológico atual de Minas Gerais, e considerando a informação constante no Guia de Vigilância em Saúde - 5ª edição, revisada e atualizada, após a confirmação laboratorial por métodos diretos dos primeiros casos em determinada área, os demais casos de dengue podem ser confirmados por critério clínico-epidemiológico, após avaliação da distribuição espacial dos casos confirmados, exceto gestantes, casos graves e óbitos, que devem ocorrer preferencialmente por critério laboratorial.

Foram definidos os seguintes critérios para coleta de amostra destinada à vigilância laboratorial:

Municípios silenciosos, com baixa incidência (> 0 e < 100) ou média incidência (> =100 e < 300) de casos prováveis nas últimas quatro semanas epidemiológicas para dengue	Municípios com taxa de incidência alta (> =300 e < 500) ou muito alta (> =500) de casos prováveis nas últimas quatro semanas epidemiológicas para dengue
Coleta obrigatória para 100% dos casos suspeitos de dengue e óbitos, independente da classificação	a) Casos suspeitos de dengue classificados no Grupo A – recomenda-se coleta de forma amostral (um a cada 10 casos). b) Casos suspeitos de dengue classificados nos Grupo B, C, D e óbitos – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos. c) Casos suspeitos de dengue em gestantes – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos independente da classificação.

RT-qPCR para dengue: permite a identificação dos sorotipos virais circulantes, contribuindo de maneira importante para a vigilância epidemiológica da doença. A coleta de soro deve ser realizada durante a viremia, até 5 dias de início dos sintomas, o líquido em até o 30º dia do início dos sintomas e as vísceras, a coleta deve ser realizada no máximo 24 horas após o óbito.

Sorologia para dengue (IgM): após o período de viremia, o diagnóstico poderá ser realizado através da sorologia, após o 6º dia de início de sintomas.

3.2.2. Chikungunya

Considerando o cenário epidemiológico de Minas Gerais, e considerando a informação constante no Guia de Vigilância em Saúde - 5ª edição, revisada e atualizada, após a confirmação laboratorial dos primeiros casos em determinada área por métodos diretos, os demais casos de chikungunya podem ser confirmados por critério clínico-epidemiológico, após avaliação da distribuição espacial dos casos confirmados, exceto recém-nascidos, gestantes, manifestações atípicas, casos graves e óbitos, que devem ocorrer preferencialmente por critério laboratorial.

Foram definidos os seguintes critérios para coleta de amostra destinada à vigilância laboratorial de chikungunya:

Municípios silenciosos, com baixa incidência (> 0 e < 100) ou média incidência (> =100 e < 300) de casos prováveis nas últimas quatro semanas epidemiológicas para chikungunya	Municípios com taxa de incidência alta (> =300 e < 500) ou muito alta (> =500) de casos prováveis nas últimas quatro semanas epidemiológicas para chikungunya
a) Casos suspeitos – recomenda-se coleta de amostra de 100% dos casos. b) Casos suspeitos em idosos, gestantes, casos graves e óbitos – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.	a) Casos suspeitos com quadro leve – recomenda-se coleta de forma amostral (um a cada 10 casos). b) Casos suspeitos em recém-nascidos, idosos, gestantes, casos com manifestações atípicas, casos graves e óbitos – coleta de amostra obrigatória em 100% dos casos.

RT-qPCR para Chikungunya: permite a identificação viral, contribuindo de maneira importante para a vigilância epidemiológica da doença. A coleta de soro deve ser realizada durante a viremia, até 5 dias de início dos sintomas.

Sorologia para Chikungunya (IgM e IgG): após o período de viremia, o diagnóstico poderá ser realizado através da sorologia. A pesquisa de IgM é recomendada após o 6º dia de início de sintomas (preferencialmente após o 8º). A pesquisa de IgG é realizada a partir do 21º dia de início de sintomas.

3.2.3. Zika

Recomenda-se a coleta de amostras de **todos os casos suspeitos de Zika**. O diagnóstico de infecção pelo vírus zika é confirmado quando há identificação de material genético do vírus por meio da técnica de RT-PCR em amostras biológicas, fazendo-se necessária a atenção à coleta oportuna e o armazenamento correto das

amostras para a realização deste exame.

RT-qPCR para Zika: Até o 5º dia de início de sintomas: soro (amostra de escolha), líquido, urina, placenta, sangue de cordão umbilical e vísceras. Até o 15º dia de início de sintomas: urina.

Sorologia para Zika (IgM e IgG): as amostras para realização de sorologia devem ser coletadas, de acordo com o período da doença: Soro (incluindo sangue de cordão umbilical) e líquido.

- Pesquisa de anticorpos IgM: a partir do 6º dia de início de sintomas até o 45º dia de início de sintomas.
- Pesquisa de anticorpos IgG: a partir do 21º dia de início de sintomas.

3.2.4. **Febre amarela**

Recomenda-se a coleta de amostras de **todos os casos suspeitos de febre amarela**.

RT-qPCR para febre amarela: Até o 5º dia de início de sintomas (soro). Até o 30º dia do início dos sintomas (líquor). No caso de vísceras, coletar no máximo 24h após o óbito.

Sorologia (MAC-ELISA): após o 6º dia de início de sintomas.

Histopatológico e imunohistoquímica (em casos de óbitos e epizootias): no máximo, 24h após o óbito.

Atenção!

Orientações complementares sobre coleta, acondicionamento e transporte de amostras para diagnóstico de dengue, zika, chikungunya e febre amarela são descritas no Anexo I e podem ser consultadas no Manual de orientações para o envio de amostras biológicas para Funed, disponível em <http://www.funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2022/09/Manual-de-orientacoes-para-o-envio-de-amostras-biologicas-para-a-FUNED.pdf>.

4. ORIENTAÇÕES PARA ENCERRAMENTO DE CASO POR CRITÉRIO CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICO:

4.1. Dengue

- Considerando análise espacial e temporal da distribuição de casos confirmados laboratorialmente por métodos diretos,
- Considerando o período de incubação intrínseco (PII) e que a viremia no ser humano geralmente se inicia um dia antes do aparecimento da febre e se estende até o 5º dia de início dos sintomas.
- Considerando que o período de incubação extrínseco (PIE), correspondente ao tempo decorrido desde a ingestão de sangue virêmico, pelo mosquito (*Aedes aegypti*) suscetível, até o surgimento do vírus na saliva do vetor, dura pelo menos oito dias.
- Considerando que o vetor na forma adulta pode viver até oito semanas (56 dias).
- Considerando uma área média de voo pelo *Aedes aegypti* de 150 metros.
- Considerando a grande período de permanência de seres humanos, de acordo com as fases da vida, no local de residência e/ou local de trabalho e/ou instituição de ensino.

Poderão ser encerrados como casos confirmados por critério clínico-epidemiológico os casos suspeitos que tiverem a data de início de sintomas aproximadamente **60 dias** da data de início de sintomas do caso de referência confirmado por critério laboratorial por método direto **E** que tiveram exposição em área de um raio de até 150 metros da residência **E/OU** local de trabalho **E/OU** instituição de ensino do caso de referência.

4.2. Chikungunya

- Considerando análise espacial e temporal da distribuição de casos confirmados laboratorialmente por métodos diretos,
- Considerando o período de incubação intrínseco (PII) e que a viremia no ser humano geralmente se inicia dois dias antes do aparecimento da febre e se estende até o 8º dia de início dos sintomas.
- Considerando que o período de incubação extrínseco (PIE), correspondente ao tempo decorrido desde a ingestão de sangue virêmico, pelo mosquito (*Aedes aegypti*) suscetível, até o surgimento do vírus na saliva do vetor, dura pelo menos três dias.
- Considerando que o vetor na forma adulta pode viver até oito semanas (56 dias).
- Considerando uma área média de voo pelo *Aedes aegypti* de 150 metros.
- Considerando a grande período de permanência de seres humanos, de acordo com as fases da vida, no local de residência e/ou local de trabalho e/ou instituição de ensino.

Poderão ser encerrados como casos confirmados por critério clínico-epidemiológico os casos suspeitos que tiverem a data de início de sintomas aproximadamente **40 dias** da data de início de sintomas do caso de referência confirmado por critério laboratorial por método direto **E** que tiveram exposição em área de um raio de até 150 metros da residência **E/OU** local de trabalho **E/OU** instituição de ensino do caso de referência.

4.3. Zika

Não há recomendação para o estado de Minas Gerais de encerramento de casos de Zika por critério clínico-epidemiológico, uma vez que não haja, até o presente momento, detecção de circulação viral por métodos diretos.

4.4. Febre amarela

Poderão ser encerrados como casos confirmados por critério clínico-epidemiológico, **exclusivamente**, caso suspeito de febre amarela que evoluiu para óbito em menos de dez dias, sem confirmação laboratorial, em período e área compatíveis com surto ou epidemia, em que outros casos e/ou epizootias de primatas não humanos já tenham sido confirmados laboratorialmente por método direto.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante do atual cenário das arboviroses no território de Minas Gerais é fundamental a revisão dos fluxos operacionais nos serviços de saúde, a fim de garantir a coleta oportuna da amostra em casos suspeitos e otimizar o fluxo de encaminhamento do paciente na rede, garantindo a resposta laboratorial visando subsidiar as ações de vigilância e assistência.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. Plano de contingência para resposta às emergências em Saúde Pública por dengue, chikungunya e zika [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Imunização e Doenças Transmissíveis. - Brasília : Ministério da Saúde, 2022.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Articulação Estratégica de Vigilância em Saúde. – 5. ed. rev. e atual. – Brasília : Ministério da Saúde, 2022.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Chikungunya : manejo clínico / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2017.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Dengue: diagnóstico e manejo clínico: adulto e criança [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – 5. ed. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016.

Minas Gerais. Secretaria de Estado de Saúde. Atualização Epidemiológica da Febre Amarela. Disponível em <https://www.saude.mg.gov.br/febreamarela> (atualizado em 20/03). Dados acessados em 23/03/23.

Minas Gerais. Secretaria de Estado de Saúde. Boletim Epidemiológico de Monitoramento dos casos de Dengue, Chikungunya e Zika. Disponível em <https://www.saude.mg.gov.br/component/gmg/story/17989-boletim-epidemiologico-de-monitoramento-dos-casos-de-dengue-chikungunya-e-zika-21-03-23> (atualizado em 20/03). Dados acessados em 23/03/23.

Minas Gerais. Fundação Ezequiel Dias. Manual de orientações para o envio de amostras biológicas para Funed. 2022. Disponível em <http://www.funed.mg.gov.br/wp-content/uploads/2022/09/Manual-de-orientacoes-para-o-envio-de-amostras-biologicas-para-a-FUNED.pdf>. Acesso em 21/03/23.

ANEXO I**Orientações para operacionalização da coleta, acondicionamento e envio de amostras aos Lacen-MG e aos Centros Colaboradores habilitados para diagnóstico de arbovírus**

Metodologia / Tempo ideal para a coleta	Amostra clínica	Procedimento de coleta	Armazenamento e conservação	Acondicionamento e transporte
Transcrição reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-PCR)	Soro: 2mL Líquor: 1mL Vísceras: fragmentos de 2cm ³ de fígado, baço, cérebro	Soro: coletar o sangue venoso em um tubo sem anticoagulante e centrifugar para obtenção do soro. Se o laboratório não dispuser de centrífuga, deixar retrair o coágulo espontaneamente. Após, transferir o soro para um tubo de transporte (criotubos) com identificação do paciente correspondentes ao tubo primário. Líquor: Para coletar o líquido realizar punção lombar conforme procedimento médico e armazenar em criotubos. Os criotubos devem ser estéreis, com tampa de rosca e resistentes a baixas temperaturas ($\leq -70^{\circ}\text{C}$). Não serão aceitos tubos com tampa tipo rolha. Vísceras: Os fragmentos de vísceras devem ser acondicionados separadamente em frascos estéreis, sem adição de conservantes ou aditivos, devidamente identificados (tipo de víscera, data da coleta e nome do paciente) e congelados imediatamente em freezer -70°C ou em nitrogênio líquido. Os tubos deverão ser de plástico, esterilizados, com tampa de rosca, devidamente rotulados (rótulo com fita transparente).	Manter congelada (-70°C ou mais frio) em freezer, gelo seco ou nitrogênio líquido. Se necessário, manter a -20°C por até 7 dias. Em casos específicos, a amostra pode ser encaminhada à FUNED refrigerada, pelo prazo máximo de 4h após a coleta.	Acondicionar em botijão de nitrogênio líquido ou em caixa apropriada para transporte de material biológico com gelo seco suficiente para manter a amostra congelada (-70°C).
Sorologia (ELISA IgM ou IgG)	Soro: 2mL Líquor: 1mL	Soro: coletar o sangue venoso em um tubo sem anticoagulante e centrifugar para obtenção do soro. Se o laboratório não dispuser de centrífuga, deixar retrair o coágulo espontaneamente. Após, transferir o soro para um tubo de transporte com identificação do paciente correspondente ao tubo primário. Líquor: Para coletar o líquido realizar punção lombar conforme procedimento médico.	Manter refrigerada (2°C a 8°C) por até 7 dias. Após este prazo, congelar (freezer -20°C) até o momento do transporte ou da realização dos testes. A amostra deve ser encaminhada ao laboratório no máximo 20 dias após a data da coleta.	Acondicionar as amostras em caixa apropriada para transporte de material biológico com gelo reciclável ou gelo seco suficiente para manter a amostra refrigerada (2°C a 8°C).
Histopatológico e imunohistoquímica	Vísceras: fragmentos de 2cm ³ de fígado, baço, cérebro	Vísceras: os fragmentos de vísceras devem ser fixados em formol (solução formalina tamponada 10%). Cobrir as vísceras com pelo menos dez vezes o volume de solução de formol. Manter em temperatura ambiente.	As amostras devem ser conservadas em solução de formol 10% e mantidas em temperatura ambiente.	Acondicionar em caixa apropriada para transporte de material biológico. Manter em temperatura ambiente (sem gelo).



Documento assinado eletronicamente por **Jaqueline Silva de Oliveira, Empregado(a) Público(a)**, em 29/03/2023, às 17:34, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Cosme Rezende Laurindo, Servidor (a) Público (a)**, em 29/03/2023, às 17:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Danielle Costa Capistrano Chaves, Coordenador(a)**, em 30/03/2023, às 11:50, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eva Lidia Arcoverde Medeiros, Coordenador(a)**, em 30/03/2023, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maira Alves Pereira, Servidor (a) Público (a)**, em 30/03/2023, às 19:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Felipe Campos de Melo Iani, Chefe de Serviço**, em 31/03/2023, às 11:23, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Josiane Barbosa Piedade Moura, Coordenadora**, em 31/03/2023, às 14:29, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



Documento assinado eletronicamente por **Eduardo Campos Prosdocimi, Subsecretário(a)**, em 31/03/2023, às 16:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 47.222, de 26 de julho de 2017](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site http://sei.mg.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **63208185** e o código CRC **551A3C25**.