

NOTA TÉCNICA Nº001/2016 – LACEN- PI

Ementa: *Orientações para solicitação e envio de amostras coletadas para o diagnóstico laboratorial da FEBRE DE CHIKUNGUNYA*

1.FEBRE DE CHIKUNGUNYA

Descrição

Doença produzida pelo vírus chikungunya (CHIKV), transmitida por mosquitos do gênero *Aedes*, que cursa com enfermidade febril aguda, subaguda ou crônica. A enfermidade aguda se caracteriza, principalmente, por início súbito de febre alta, cefaleia, mialgias e dor articular intensa, afetando todos os grupos etários e ambos os sexos. Em uma pequena porcentagem dos casos a artralgia se torna crônica, podendo persistir por anos. As formas graves e atípicas são raras, mas quando ocorrem podem, excepcionalmente, evoluir para óbito.

Definição de caso

Suspeito

Paciente com febre de início súbito, acima de 38,5°C, e artralgia ou artrite intensa de início agudo, não explicado por outras condições, sendo residente em (ou tendo visitado) áreas endêmicas ou epidêmicas até duas semanas antes do início dos sintomas, ou que tenha vínculo epidemiológico com caso confirmado.

Confirmado

Caso suspeito com um dos seguintes parâmetros laboratoriais nos testes específicos para diagnóstico de CHIKV

- isolamento viral positivo;
- detecção de RNA viral por RT-PCR;
- detecção de IgM em uma única amostra de soro (coletada durante a fase aguda ou convalescente);
- demonstração de soroconversão (negativo → positivo ou aumento de quatro vezes) nos títulos de IgG por testes sorológicos (ELISA ou teste de Inibição da Hemaglutinação- IH) entre as amostras nas fases aguda (preferencialmente primeiros 8 dias de doença) e convalescente, preferencialmente de 15 a 45 dias após o início dos sintomas, ou 10-14 dias após a coleta da amostra na fase aguda;
- PRNT positivo para o CHIKV em uma única amostra de soro (coletada durante a fase aguda ou convalescente).

Em situação de epidemia de CHIKV em uma determinada área, o diagnóstico deve ocorrer somente por critério clínico-epidemiológico, exceto para as formas atípicas e óbitos.

2. Visando orientar as Regionais de Saúde, Municípios, Unidades de Saúde e outros locais que enviam materiais para o LACEN/PI, e tendo em vista o seu papel como laboratório de Referência em Saúde Pública segue as informações e os procedimentos.

Os resultados dos seguintes testes laboratoriais confirma uma infecção recente com CHIKV:

- pesquisa de vírus – isolamento do CHIKV;
- pesquisa de genoma de vírus – detecção de RNA de CHIKV por reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) em tempo real ou RT-PCR clássico/ convencional;
- pesquisa de anticorpos IgM por testes sorológicos – ensaio imunoenzimático ELISA;
- teste de neutralização por redução em placas (PRNT);
- demonstração de soroconversão (negativo → positivo ou aumento de quatro vezes) nos títulos de IgG por testes sorológicos (ELISA ou teste de Inibição da Hemaglutinação – IH) entre as amostras nas fases aguda (preferencialmente primeiros 8 dias de doença) e convalescente, preferencialmente de 15 a 45 dias após o início dos sintomas, ou 10-14 dias após a coleta da amostra na fase aguda.

Notificação

Por ser uma doença de notificação compulsória imediata, todo caso suspeito deve ser comunicado em, até 24 horas do atendimento, ao Serviço de Vigilância Epidemiológica Municipal e a todas as esferas do Sistema Único de Saúde (SUS).

Orientações para procedimentos laboratoriais

Três tipos principais de testes de laboratório são utilizados para diagnosticar CHIKV: isolamento do vírus(no momento não estamos recebendo amostra para este tipo de exame), reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa (RT-PCR) e sorologia (estas duas últimas metodologias estão sendo realizadas no LACEN-PI). As amostras colhidas na primeira semana após o início dos sintomas devem ser testadas por dois métodos: sorológico (IgM e IgG ELISA ou IH; PRNT) e virológico (RT-PCR e isolamento). As amostras são geralmente sangue (virológico) ou soro (sorológico), mas nos casos neurológicos com características meningoencefálicas, líquido cefalorraquidiano também pode ser coletado para os testes laboratoriais (virológico e sorológico).

Detecção do genoma viral pelo método da transcrição reversa seguida da reação em cadeia da polimerase (RT-PCR)

Diversos ensaios de RT-PCR para a detecção de RNA do CHIKV foram publicados na literatura. PCR em tempo real com ensaios fechados devem ser utilizados devido à sua maior sensibilidade e menor risco de contaminação cruzada. Assim como no isolamento do vírus, a amostra utilizada é de sangue total, soro, LCR ou fragmentos de vísceras. A coleta deve ser realizada na fase de viremia (entre o 1º e o 8º dia, preferencialmente até o 5º dia de doença) as quais pode ser soro, sangue total e líquido cefalorraquidiano (em casos de meningoencefalite). Devem ser coletados 2mL de sangue total com seringa estéril

descartável, acondicionando em tubo plástico estéril com tampa de rosca, sem aditivos (EDTA, citrato etc.) e congelado imediatamente (-70°C). As amostras de soro (2mL) podem ficar a 4°C, no máximo por 6 horas e imediatamente congeladas no freezer a -70°C ou no nitrogênio líquido. As amostras devem ser transportadas refrigeradas o mais rapidamente possível (dentro de 48 horas) para o laboratório.

Pesquisa de anticorpos (sorologia)

Para o diagnóstico sorológico, o soro obtido a partir de sangue total é utilizado em *enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA). Não se deve congelar o sangue total, pois a hemólise pode interferir no resultado do teste de sorologia. As amostras devem ser coletadas em duas fases diferentes: aguda (**preferencialmente entre os primeiros 8 dias de doença**) e convalescente (**preferencialmente de 15 a 45 dias após o início dos sintomas ou entre o 14º e o 30º dias após a coleta de fase aguda**). Deve-se coletar, no mínimo, 5mL de sangue sem anticoagulante, com seringa estéril descartável ou em tubo a vácuo com gel separador, realizando posteriormente a separação do soro sanguíneo. Acondicionar o soro obtido em tubos estéreis de plástico resistente com tampa de rosca. Para evitar risco de hemólise, deve-se fazer a separação do soro antes de enviá-lo ao laboratório. Deixar o sangue na temperatura ambiente por 20 a 30 minutos para permitir a retração do coágulo, centrifugar a 1.500rpm durante 10 minutos. O soro, assim obtido, deve ser decantado ou aspirado com pipeta Pasteur. Os soros obtidos para realização de estudos sorológicos podem ficar em temperatura ambiente por 24 horas e

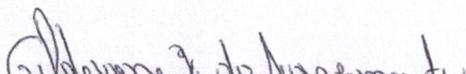
Métodos de diagnóstico	Tipos de espécime biológico	Quantidade	Períodos para coleta	Recipientes	Armazenamento e conservação	Transporte
RT-PCR	Sangue ou soro	2mL	1º ao 8º dia de doença preferencialmente no 5º dia	Tubo estéril de plástico resistente, com tampa de rosca	Transporte imediato: ou 2°C a 8°C (refrigerado) até no máximo 48 horas;	Gelo seco ou gelo reciclável (gelox)
Sorológico	Soro	No mínimo 5mL	Fase aguda: preferencialmente nos primeiros 8 dias de doença Fase convalescente: preferencialmente entre 15 e 45 dias após início dos sintomas	Tubo estéril de plástico resistente, com tampa de rosca	Transporte imediato: ou 2°C a 8°C (refrigerado) até no máximo 48 horas;	Gelo seco ou gelo reciclável (gelox)

6- Envio/Transporte

- A(s) amostra(s) deverá ser enviada com uma via da Ficha Epidemiológica (modelo Sinan), devidamente preenchida, incluída no Gerenciador de Ambiente Laboratorial (GAL). As amostras devem ser encaminhadas através de ofício, com endereço completo, número de telefone e *e-mail* da instituição solicitante, se possível especificando os exames solicitados.
- A amostra deve ser acondicionada em estante para tubos ou em caixas dentro de uma caixa térmica.
- Encaminhar com a **ficha do GAL**.

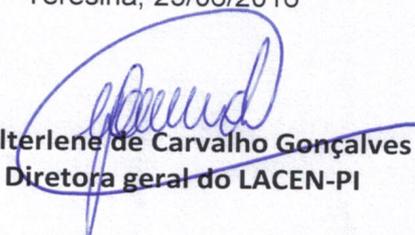
Atenciosamente,

Teresina, 25/06/2016



Gildevane Vieira do Nascimento
Gerente técnica do LACEN-PI

Gildevane Vieira do Nascimento
Gerente Técnica do LACEN-PI



Walterlene de Carvalho Gonçalves
Diretora geral do LACEN-PI

Walterlene de Carvalho Gonçalves
FARMACÉUTICA - BIOQUÍMICA
DIRETORA DO LACEN - PI
CRF 497/PI

Dúvidas e esclarecimentos contatar
Email: getec@lacen.pi.gov.br
Fones: 86 – 3221-3551