



GOVERNO DE SERGIPE  
SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE  
FUNDAÇÃO DE SAÚDE PARREIRAS HORTA - FSPH  
LABORATÓRIO CENTRAL DE SAÚDE PÚBLICA – LACEN/SE

**NOTA TÉCNICA Nº 02/2017/LACEN/FSPH**

Versão 1.0

**ORIENTAÇÕES TÉCNICAS PARA COLETA, ACONDICIONAMENTO E TRANSPORTE DE AMOSTRAS BIOLÓGICAS PARA PESQUISA DE FEBRE AMARELA EM PRIMATA NÃO HUMANO (PNH) NO ESTADO DE SERGIPE.**

**Objetivo:** Normatizar procedimentos técnicos de coleta, transporte e acondicionamento de amostras biológicas para o diagnóstico da febre amarela em primatas não humanos.

Nos últimos meses, casos humanos e epizootia em primatas não humanos foram relatados em alguns estados brasileiros indicando uma provável reemergência do vírus amarílico. Apesar de o estado de Sergipe esta situada em uma área considerada sem risco para a febre amarela (áreas sem recomendação de vacina – ASRV), porém a presença dos vetores e de hospedeiros susceptíveis como PNH se faz necessário à intensificação de ações que visem o reconhecimento precoce dos acontecimentos que indiquem uma provável ameaça de circulação do vírus.

Tendo em vista a situação exposta o Laboratório Central de Saúde Pública do Estado de Sergipe vem através desta nota orientar quanto à coleta, acondicionamento e envio das amostras de PNH para pesquisa do vírus amarílico.

## **1. COLETA DE AMOSTRA PARA ISOLAMENTO VIRAL E PCR**

**Tipo de amostra:** Sangue/Soro

- Coletar o sangue com seringa hipodérmica de 10 ml, com agulha 25x7. Colher de 2 a 6 ml em animais vivos até 3 kg e colher 6 a 10 ml em animais com peso acima de 6kg. Em animais mortos, colher 6 a 10 ml por punção cardíaca.
- **IMPORTANTE:** Para o isolamento viral o tempo máximo para colheita após a morte não deve ultrapassar o período de 8 horas.
- Após a colheita, colocar de 1 a 2 ml de sangue total em tubo seco de vidro ou plástico sem anticoagulante e o restante em tubo estéril com gel separador.

- Havendo possibilidade centrifugar a amostra a 1.500 rpm durante 10 minutos. Caso não exista a disponibilidade de utilizar centrífuga, deixar o tubo em repouso na geladeira a 4°C (fora do congelador), por um período máximo de seis horas e encaminhar ao LACEN.
- Na impossibilidade de separação do soro ou quando a amostra for de pequeno volume, é recomendado encaminhar somente a amostra de sangue total, pois se trata de material preferencial para isolamento viral.
- Por medida de segurança, este procedimento deve ser realizado em duplicata: uma amostra fica armazenada no LACEN, como reserva técnica, e a outra deve ser enviada para análise.

**Tipo de amostra:** Visceras

- Coletar em frasco estéril com boa vedação fragmentos de tecidos com cerca de 0,5 cm de espessura x 2 cm do fígado, rim, baço, coração e cérebro
- Acondicionar cada fragmento coletado em frascos diferentes e identificados com o nome da espécie, data e local da coleta e tipo de Fragmento.
- Depois de colhidos os materiais acima mencionados, congelá-los imediatamente em freezer - 20 °C e encaminhar ao LACEN até 24 horas para acondicionamento em freezer a -70°C.

## **2. COLETA DE AMOSTRA PARA DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO**

**Tipo de amostra:** Visceras

- Coletar em frasco estéril com boa vedação fragmentos de tecidos com cerca de 0,5 cm de espessura x 2 cm do fígado, rim, coração, baço, pulmão, linfonodos e cérebro. Acondicionar cada fragmento coletado em frascos diferentes e devidamente identificado.
- A obtenção das amostras deverá ser o mais precoce possível (ideal antes de 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas).
- Depois de colhidos, os fragmentos devem ser acondicionados em frascos separados, com boa vedação, em formalina tamponada a 10% e mantidos na temperatura ambiente (não congelar e nem refrigerar), sendo um frasco para cada víscera.
- O volume de fixador deve ser 10 vezes superior ao volume do tecido a ser examinado. Jamais se deve utilizar álcool ou gelo para conservar material destinado a exame histopatológico, pois estes agentes não permitem uma correta fixação, prejudicando seu processamento e análise.
- Recomenda-se, ainda, a colheita de fragmento de cérebro para o diagnóstico da raiva animal.

## **Coleta de Animais Mortos**

- Caso não tenha condições operacionais de realizar a coleta dos materiais biológicos, colocar o cadáver do animal em dois sacos plásticos bem fechados numa caixa térmica (por exemplo, isopor) com bastante gelo (também envolvido em saco plástico bem vedado) ou bobinas de gelo reciclável.
- Constatado o adoecimento e/ou a morte de primata(s), as autoridades de saúde local (Secretaria Municipal de Saúde – SMS devem imediatamente (até 24 horas) entrar em contato com CIEVS Estadual através do 0800.282.2822 ou Núcleo de Endemias ( 3226-8300) a fim de que sejam acionadas as vigilância e o serviço de necropsia.

## **3. TRANSPORTE DAS AMOSTRAS:**

### **Para Isolamento viral ou detecção do genoma viral**

- As amostras destinadas à tentativa de isolamento viral ou detecção do genoma viral por RT-PCR devem ser transportadas em caixas isotérmicas contendo gelo comum (acondicionado em saco plástico, hermeticamente fechado) ou reciclável (por exemplo, gelox). Os frascos contendo as amostras, devidamente identificados, deverão ser lacrados com fita adesiva.

### **Amostras de tecidos fixadas em formol para exames histopatológico**

- As amostras preservadas em formol a 10% devem ser transportadas em temperatura ambiente.

## **4. ENVIO DE AMOSTRAS**

- Após a coleta, as amostras para o diagnóstico de Febre Amarela não deverão ficar armazenadas por mais de 48 horas, para isso, as mesmas deverão ser encaminhadas pelo município ao LACEN, preferencialmente no mesmo dia.
- Enviar as amostras de segunda à sexta-feira, com recebimento das 7:00 às 15:00 horas no LACEN.
- Cada amostra deve ser acompanhada da ficha de notificação de epizootias em primatas não humanos do SINAN (ANEXO 1), devidamente preenchida com todos os dados solicitados.
- Os frascos com as amostras deverá ser identificado usando uma etiqueta escrita a caneta que possua tinta resistente aos meios de conservação (nitrogênio, frio...) onde deverão constar:
  - As abreviaturas: FA (de febre amarela), seguida de An (animal);
  - Nome da espécie;
  - A data da coleta;
  - A natureza da amostra (sangue ou tipo de tecido);

- Responsável pela coleta.
- Para envio de amostras nos finais de semana deve-se acondicionar amostra congelada até segunda-feira adotando o fluxo semanal conforme acima escrito.

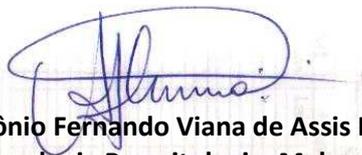
**Observação:** Os procedimentos e técnicas para manejo de animais silvestres, coleta de campo, destinação de resíduos, necropsia de PNH e demais informações pertinentes estão disponíveis no Manual de Vigilância de Epizootias em PNH  
[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia\\_vigilancia\\_epizootias\\_primatas\\_entomologia.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/guia_vigilancia_epizootias_primatas_entomologia.pdf)

## 5. INFORMAÇÕES INERENTES:

O Lacen/SE não realiza nenhum teste para Febre Amarela. Todas as amostras são encaminhadas para o Laboratório de Referência, Instituto Adolf Lutz, em São Paulo-SP.

Em casos de dúvidas, entrar em contato com o Lacen nos telefones:  
Gerência de Entomologia, Parasitologia, Malacologia e Zoonoses: (79)3234-6029.

Aracaju, 17 de abril de 2017.



**Antônio Fernando Viana de Assis Lima**  
Gerente de Entomologia Parasitologia, Malacologia e Zoonoses  
FSPH/Lacen/SE



Aprovo a Nota Técnica 02/2017/LACEN/FSPH.

Aracaju, 18 de abril de 2017.



**Danuza Duarte Costa**  
Superintendente  
FSPH/Lacen/SE

# ANEXO 1

República Federativa do Brasil  
Ministério da Saúde

**SINAN**  
SISTEMA DE INFORMAÇÃO DE AGRAVOS DE NOTIFICAÇÃO  
FICHA DE NOTIFICAÇÃO/ INVESTIGAÇÃO **EPIZOOTIA**

Nº

Definição do caso: Animal ou grupo de animais encontrados doentes e/ou mortos, incluindo ossadas, sem causa definida, que podem preceder a ocorrência de doenças em humanos

Dados Gerais	1	Tipo de Notificação		2- Individual		
	2	Agravado/doença			3	
	EPIZOOTIA			Data da Notificação		
	4	UF	5	Município de Notificação	Código (IBGE)	
	6	Unidade de Saúde (ou outra fonte notificadora)			Código	7
				Data do início da epizootia		
Dados de Ocorrência	8	Fonte da informação			9	
				(DDD) Telefone da fonte da informação		
	10	UF	11	Município de Ocorrência	Código (IBGE)	12
				Distrito		
	13	Bairro		14	Logradouro (rua, avenida, ...)	
				Código		
	15	Número	16	Complemento (apto., casa, ...)	17	
				Geocampo 1		
	18	Geocampo 2		19	Ponto de Referência	
				20		
				CEP		
	21	(DDD) Telefone		22	Zona	
				1 - Urbana 2 - Rural <input type="checkbox"/> 3 - Periurbana 9 - Ignorado <input type="checkbox"/>		
			23			
			Ambiente			
			1-Domicílio 2-Parque, praça ou zoológico			
			3-Área silvestre 4-Reserva ecológica 5-Outro			
24	Houve coleta de material para exame laboratorial			1-Sim 2-Não 9-Ignorado <input type="checkbox"/>		
			25			
			Se houve coleta, informar a data			
26	Se houve coleta, qual material			1-Sim 2-Não 9-Ignorado		
			<input type="checkbox"/> fígado <input type="checkbox"/> rim <input type="checkbox"/> baço <input type="checkbox"/> cérebro <input type="checkbox"/> coração <input type="checkbox"/> fezes <input type="checkbox"/> soro <input type="checkbox"/> sangue total			
			<input type="checkbox"/> outro material Qual _____			
27	Animais acometidos			Doentes _____ Mortos _____		
			1-Ave 3-Canino 5-Felino 7-Primata não humano 9-Outros. 2-Bovideo 4-Equideo 6-Morcego 8-Canídeo selvagem Especificar _____			
28	Suspeita diagnóstica			1ª suspeita diagnóstica <input type="checkbox"/>		
			4-Encefalite Espongiforme Bovina <input type="checkbox"/>			
			5-Febre Amarela <input type="checkbox"/>			
			6-Influenza Aviária <input type="checkbox"/>			
			7-Outro. Especificar: _____ <input type="checkbox"/>			
			3ª suspeita diagnóstica <input type="checkbox"/>			
29	Resultado laboratorial			1-Positivo 2-Negativo 3-Inconclusivo 9-Ignorado		
			<input type="checkbox"/> Raiva <input type="checkbox"/> Encefalite espongiforme bovina <input type="checkbox"/> Outro Especificar _____			
			<input type="checkbox"/> Encefalite equina <input type="checkbox"/> Febre amarela			
			<input type="checkbox"/> Febre do Nilo <input type="checkbox"/> Influenza aviária			

Observações:

---



---



---

Investigador	Município/Unidade de Saúde		Código da Unid. de Saúde	
	Nome		Assinatura	
		Função		