

ANEXO I

Orientações para coleta, armazenamento, conservação e transporte das amostras biológicas de **HUMANOS** para o diagnóstico laboratorial de Arboviroses

Tipo de Diagnóstico	Amostra Clínica	Procedimento de Coleta	Armazenamento e Conservação	Acondicionamento e Transporte
Sorologias (métodos indiretos): Ensaio Imunoenzimático - ELISA (IgM/IgG e NS1*); Inibição da Hemaglutinação; Teste de Neutralização por Redução de Placas (PRNT)	Soro, Líquido Cefalorraquidiano (LCR)	Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, sendo a 1ª coleta a partir do 6º dia do início dos sintomas e a 2ª coleta após 15 dias da 1ª coleta, exceto para NS1, quando a amostra deverá ser coletada até o 5º dia após o início dos sintomas. Aliquotar 2-3mL do soro para realizar testes sorológicos. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após estes períodos, manter a -70 °C.	
Biologia Molecular e Isolamento Viral (métodos diretos): Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-qPCR); Sequenciamento Genético; Inoculação em Células C6/36; Inoculação em Células vero	Sangue, Soro/Plasma, Líquido Cefalorraquidiano (LCR); Urina; Sêmen; Tecido/Fragmentos de Visceras (fígado, rim, coração, pulmão, baço, linfonodo, cérebro, músculo esquelético) Gestantes: placenta e anexos fetais (disco Placentário e cordão umbilical)	Coletar cerca de 5mL (criança) e 10mL (adulto) de sangue total, sem anticoagulante, para obtenção do soro ou com EDTA para obtenção do plasma, sendo a coleta realizada até o 5º dia a partir do início dos sintomas (casos suspeitos de infecção pelo vírus da Febre Amarela, considerar até o 10º dia). Aliquotar 2-3mL do soro/plasma para realizar testes moleculares. Para urina e sêmen, coletar 10mL até 15 dias após o início dos sintomas. Em casos com manifestações neurológicas, puncionar 1mL (criança) e 3mL (adulto) de LCR, até 15 dias após o início dos sintomas. Para investigação de óbitos, coletar 2cm ³ de fragmentos de vísceras à fresco, logo após o óbito (no máximo 48 horas) Placenta e anexos fetais: pelo menos duas secções de espessura total (0,5 a 1cm x 3 a 4cm de profundidade) do terço médio do disco placentário e pelo menos 1cm da margem do disco placentário Membranas fetais: uma tira de 5 x 12cm de retirada da área de ruptura e incluindo uma pequena parte da borda do disco placentário e dois fragmentos do cordão umbilical	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca e anel de vedação. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar entre 2 e 8 °C até no máximo 48 horas; -20 °C até 7 dias; após este período, manter a -70 °C. Obs.: No caso de fragmento de vísceras, não utilizar Formalina tamponada 10%.	Acondicionar em caixa de transporte de amostra biológica (Categoria B UN/3373) com gelo reciclável.
Anatomia Patológica: Histopatologia; Imunohistoquímica (IHQ)	Tecido/Fragmentos de Visceras (fígado, rim, coração, pulmão, baço, linfonodo, cérebro, músculo esquelético) Gestantes: placenta e anexos fetais (disco Placentário e cordão umbilical)	Para investigação de óbitos, coletar 2cm ³ de fragmentos de vísceras a fresco, logo após o óbito em até 48 horas. Placenta e anexos fetais: pelo menos duas secções de espessura total (0,5 a 1cm x 3 a 4cm de profundidade) do terço médio do disco placentário e pelo menos 1cm da margem do disco placentário Membranas fetais: uma tira de 5 x 12cm de retirada da área de ruptura e incluindo uma pequena parte da borda do disco placentário e dois fragmentos do cordão umbilical	Utilizar tubo plástico estéril, com tampa de rosca, anel de vedação e Formalina tamponada 10% com volume suficiente para cobrir as vísceras. Rotular o tubo com o nome/número do paciente, data da coleta e tipo de amostra. Conservar em temperatura ambiente.	

*NS1 é considerado método direto, mesmo estando no grupo das sorologias

Orientações para coleta, armazenamento, conservação e transporte das amostras biológicas de **ANIMAIS para o diagnóstico laboratorial de Arboviroses**

Tipo de Diagnóstico	Amostra Clínica	Procedimento de Coleta	Armazenamento e Conservação	Acondicionamento e Transporte	Observações
Sorologia (métodos indiretos)	Sangue; Líquido Cefalorraquidiano (LCR) ¹	Coletar o sangue sem anticoagulante, e separar no mínimo 1mL do soro para sorologia. Coletar amostras pareadas, sendo a primeira o mais breve possível após o início dos sinais clínicos e a segunda pelo menos 14 dias depois.	Tubo plástico estéril com tampa de rosca devidamente identificado. Conservar em freezer a -20°C.	Transportar em caixa de transporte de amostra biológica com gelo reciclável. Caso não seja possível, pode-se utilizar gelo comum (contido em saco plástico).	Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. O tempo máximo para a coleta não deve ultrapassar 6 horas da morte do animal. Enviar material para o Lacen.
Biologia Molecular e Isolamento Viral (métodos diretos): Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase (RT-qPCR); Sequenciamento Genético; Inoculação em Células C6/36; Inoculação em Células vero	Sangue/Soro; Líquido Cefalorraquidiano (LCR) ¹	Coletar o sangue sem anticoagulante. Colher de 2 a 6mL (animais com até 3 kg) ou de 6 a 10mL (animais acima de 6 kg). Em animais mortos, colher 6 a 10mL por punção cardíaca	Tubo resistente a temperatura ultrabaixa (CRIOTUBO) capacidade de 2mL com tampa de rosca e anel de vedação, devidamente identificado. Utilizar três tubos e colocar de 0,5 a 1mL de sangue ou soro em cada um. Conservar a -70°C.	Colocar em saco plástico individualizado dentro de uma canaleta identificado no botijão de nitrogênio líquido ou em caixa de transporte de amostras biológicas contendo gelo seco.	Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. O tempo máximo para a coleta não deve ultrapassar 6 horas da morte do animal. Enviar material para o Lacen.
	Tecido/Fragmentos de Visceras	Coletar fragmentos pequenos (0,5 cm de espessura x 2 cm de comprimento) do fígado, rim, coração, baço, pulmão, linfonodos e cérebro. A obtenção das amostras deverá ser feita o mais precoce possível (ideal até 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas).	Frasco plástico estéril com tampa de rosca resistente a temperatura ultrabaixa. Capacidade 15mL. Conservar em freezer a -70°C.	Colocar em saco plástico individualizado dentro de uma canaleta identificado no botijão de nitrogênio líquido ou em caixa de transporte de amostras biológicas contendo gelo seco.	Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. Colocar o fragmento de cérebro em frascos separados dos demais fragmentos. Os órgãos devem ser armazenados separadamente Enviar material para o Lacen
Anatomia Patológica: Histopatologia; Imunohistoquímica (IHQ)	Tecido/Fragmentos de Visceras	Coletar fragmentos pequenos (2 a 3 cm ³) de fígado, rim, baço, coração, pulmão, linfonodos e cérebro. A obtenção das amostras deverá ser o mais precoce possível (ideal até 8 horas após óbito; no máximo em 24 horas)	Colocar os fragmentos de vísceras em frasco com tampa de rosca contendo formalina tamponada.	Colocar os frascos em caixa de transporte de amostra biológica sem gelo. Conservar em temperatura ambiente.	Acompanha ficha de epizootia com dados do PNH. Usar formalina tamponada a 10%, com volume 10 vezes maior que o volume dos fragmentos. Enviar material para o Lacen.

* Para equinos