

Exames laboratoriais

Objetivos

- ✓ Identificar as principais causas de surtos na área de trabalho
- ✓ Conhecer os diferentes tipos de amostras e testes de diagnóstico que podem ser realizados, dependendo da dinâmica da infecção
- ✓ Revisar a função do laboratório ligado à vigilância para caracterização de surtos

Conteúdo



Etiologias mais frequentes na região das Américas



Tipo, coleta e conservação de amostras

- Exemplos de tipo de amostra e conservação adequada

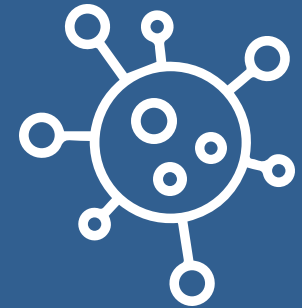


Testes mais comumente usados para o diagnóstico de agentes etiológicos

- Sorológico
- Molecular
- Microscopia

Etiologias mais frequentes na região das Américas

- **Síndrome febril:**
 - Dengue, chikungunya, Zika, febre amarela, influenza, leptospirose, malária
- **Síndrome febril ictérica:**
 - Febre amarela, leptospirose, malária, hepatite
- **Síndrome hemorrágica ictérica febril:**
 - Febre amarela, leptospirose
- **Síndrome hemorrágica febril:**
 - Dengue, febre amarela, leptospirose
- **Síndromes neurológicas:**
 - Bacteriana, viral (Zika e encefalite viral)
- **Síndromes respiratórias:**
 - Influenza e outros vírus respiratórios
- **Doença diarreica aguda:**
 - Rotavírus, norovírus, enterobactérias
- **Doença exantemática:**
 - Zika, sarampo, rubéola



Testes mais comumente usados para diagnóstico de agentes etiológicos



Sorológicos:

- ELISA (IgM e IgG)
- Imunofluorescência direta e indireta



Moleculares:

- Reação em cadeia da polimerase (PCR)
- PCR em tempo real
- Sequenciamento



Microscopia:

- Microscopia óptica

Testes sorológicos (Sorologia)



Detectam a presença de anticorpos



São baseados na reação antígeno-anticorpo e são uma ferramenta valiosa para o diagnóstico de doenças infecciosas



São mais baratos do que os testes moleculares



Podem ser de dois tipos: evidência direta e evidência indireta

- **Testes diretos:** são baseados no princípio da reação antígeno-anticorpo para investigar a presença do antígeno. Em outras palavras, eles investigam a presença do agente etiológico ou de um de seus componentes. Exemplo: imunofluorescência direta.
- **Testes indiretos:** baseiam-se na detecção de anticorpos específicos contra o agente ou um de seus componentes e permitem indiretamente a suposição de que o patógeno sob investigação esteve presente no hospedeiro em algum momento.

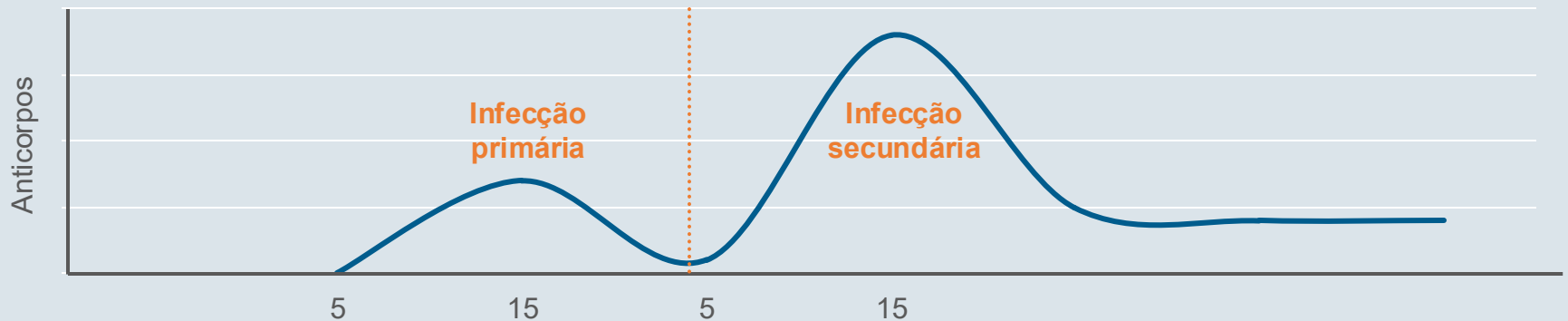
Testes sorológicos (Sorologia)

Conceitos importantes para a interpretação dos resultados sorológicos:

- O IgM positivo está associado a uma infecção recente
- O aumento do título de anticorpos em amostras pareadas indica infecção recente
 - Primeira amostra: negativa
 - Segunda amostra: presença de anticorpos
 - Título de anticorpos da segunda amostra $> 4x$ o título de anticorpos da primeira amostra
- IgG positivo indica (em geral) infecção anterior



Tipos de amostras e sua coleta adequada



Testes sorológicos (Sorologia)

- **Imunofluorescência**

- As técnicas de imunofluorescência podem ser aplicadas como técnicas para investigar a presença de antígenos virais, parasitários, bacterianos ou fúngicos em amostras clínicas ou anticorpos produzidos contra eles no soro do paciente.

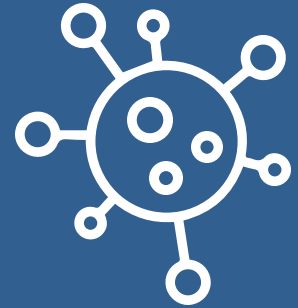
- **ELISA (ensaio de imunoabsorção enzimática)**

- Os ensaios de imunoabsorção enzimática são testes baseados na reação antígeno-anticorpo que permitem a detecção da presença de anticorpos produzidos contra antígenos virais, parasitários, bacterianos ou fúngicos em amostras clínicas no soro do paciente.
- A técnica ELISA pode ser usada para detectar IgM ou IgG.



Testes moleculares

- Se baseiam na detecção do genoma do agente etiológico.
- Podem detectar RNA ou DNA do agente etiológico com alta sensibilidade e especificidade.
- São mais caros do que a sorologia.
- Confirmam a presença do agente etiológico na amostra clínica.
- Permitem a detecção de RNA ou DNA mesmo em volumes de amostra muito pequenos.



Testes moleculares

- Reação em cadeia da polimerase (PCR, ponto final)
 - O PCR de ponto final baseia-se na amplificação e visualização do DNA complementar (cDNA). Essa técnica envolve a amplificação e a visualização de um fragmento de DNA específico para o agente etiológico.
- PCR em tempo real
 - Também conhecido como PCR quantitativo, é uma variante da reação em cadeia da polimerase (PCR).
 - O PCR em tempo real possibilita a amplificação e, ao mesmo tempo, a quantificação absoluta de moléculas específicas de DNA ou cDNA.
 - Sua vantagem em relação ao PCR convencional é que podem ser usadas pequenas quantidades de DNA ou cDNA.



Microscopia

- Consiste na utilização de instrumentos especiais, como lupas e microscópios, para ampliar o tamanho de estruturas imperceptíveis que estão além da faixa de resolução do olho humano, como vírus, bactérias e parasitas.
- A observação microscópica é uma necessidade no campo da parasitologia.
- As formas de observação variam de acordo com as estratégias empregadas e vão da observação micrométrica à nanométrica.
- Portanto, são necessários diferentes tipos de microscópios, como os microscópios fotônicos e eletrônicos (microscópios de varredura, de transmissão e de energia atômica).



Microscopia

Microscopia óptica

- A microscopia óptica possibilita a visualização de bactérias e parasitas simplesmente examinando a amostra sob o microscópio.
- Para bactérias, a coloração de Gram (uma coloração violeta) costuma ser usada primeiro. As bactérias são classificadas da seguinte forma:
 - **Gram-positivas** (que aparecem em azul porque retêm a coloração de Gram)
 - **Gram-negativas** (aparecem em vermelho porque não se coram)
- O esfregaço de sangue é usado para detectar parasitos encontrados no sangue, como filariose, malária ou babesiose. Para realizar esse exame, uma gota de sangue é colocada em uma lâmina de microscópio, corada e examinada no microscópio para visualização do parasita.



Tipo, coleta e conservação de amostras

O sucesso do diagnóstico laboratorial depende de dois fatores na fase extra-laboratorial:



Escolha do tipo de amostra:

- É importante escolher o tipo certo de amostra de acordo com o material clínico e os dias de início dos sintomas em que é possível obter um resultado positivo (sorológico ou molecular)



Qualidade da amostra:

- Há três fatores que influenciam diretamente a qualidade da amostra a ser recebida no laboratório:
 - Coleta correta
 - Preservação da cadeia de frio durante o transporte
 - Preservação da temperatura adequada de acordo com o tempo de processamento

Exemplos de tipo de amostra e conservação adequada



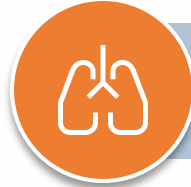
Dengue, chikungunya,
febre amarela, hantavírus,
leptospirose



Zika, sarampo e rubéola



Hepatite



Influenza e outros vírus
respiratórios



Encefalite bacteriana e viral



Rotavírus, norovírus,
enterobactérias



Malária



Meningites

Dengue, chikungunya, febre amarela, hantavírus, leptospirose

- **Tipo de amostra:** soro
- **Quantidade:** 3 a 7 mL
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 5 dias após o início dos sintomas: PCR
 - 5 a 10 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA IgM



Zika, sarampo e rubéola

- **Tipo de amostra:** soro
- **Quantidade:** 3 a 7 ml
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 5 dias após o início dos sintomas: PCR
 - 5 a 10 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA IgM



Zika, sarampo e rubéola

- **Tipo de amostra:** urina
- **Quantidade:** 3 a 7 ml
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 15 dias após o início dos sintomas: PCR



Zika – Síndrome congênita ou fatalidades

Amostra	Quantidade	Meios de transporte	Condições de transporte	Conservação >1 semana	Teste de laboratório
Soro da mãe	5–7 ml	Sem aditivos	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT , outros
Sangue de cordão	5–7 ml	Sem aditivos	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT , outros
Placenta	0,5–1 ml	Formol tamponado	4 °C – TA*	4 °C – TA*	Imunohistoquímica
Placenta	5–7 ml	Solução salina	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR
Cordão umbilical (tecido)		Formol tamponado	4 °C – TA*	4 °C – TA*	Imunohistoquímica
Cordão umbilical (tecido)		Solução salina	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR
Soro para recém-nascidos	0,5–1 ml	Sem aditivos	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT , outros
Recém-nascido do LCR**	0,5 ml	Sem aditivos	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR, ELISA IgM, PRNT , outros
Sangue total da mãe	5–7 ml	EDTA, outros	4 / 8 °C	4 °C	Bioquímica, outros
Sangue total do recém-nascido	2–5 ml	EDTA, outros	4 / 8 °C	4 °C	Bioquímica, outros
Tecidos**	3x3 cm (aprox.)	Formol tamponado	4 °C – TA*	4 °C	Imunohistoquímica
Tecidos**	3x3 cm (aprox.)	Solução salina	4 / 8 °C	-20 / -70 °C	PCR

* Temperatura ambiente

*** Caso fatal: cérebro, fígado, rim, outros

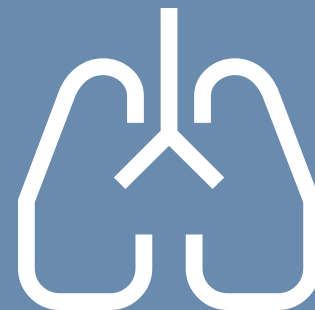
** Sob indicação médica por suspeita de síndrome neurológica

Hepatite viral

- **Tipo de amostra:** soro
- **Quantidade:** 3 a 7 ml
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 5 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA HBsAg (para hepatite B)
 - 5 a 10 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA IgM



Influenza e outros vírus respiratórios



- **Tipo de amostra:** swab nasofaríngeo
- **Material:** 2 swabs de náilon
- **Meio de transporte:** meio de transporte viral ou solução salina (3 ml)
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** 4°C até que as alíquotas sejam preparadas; alíquotas a -20°C (até 48 horas) e -70°C (mais de 48 horas)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - PCR ou IF (somente tipagem) seguido de PCR

Influenza e outros vírus respiratórios



- **Tipo de amostra:** aspirado nasofaríngeo; lavagem nasofaríngea
- **Material:** dispositivo de sucção
- **Meio de transporte:** solução salina
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** 4°C até que as alíquotas sejam preparadas; alíquotas a -20°C (até 48 horas) e -70°C (mais de 48 horas)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - PCR ou IF (somente tipagem) seguido de PCR

Encefalite bacteriana e viral

- **Tipo de amostra:** soro
- **Quantidade:** 3 a 7 ml
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 5 dias após o início dos sintomas: PCR
 - 5 a 10 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA IgM



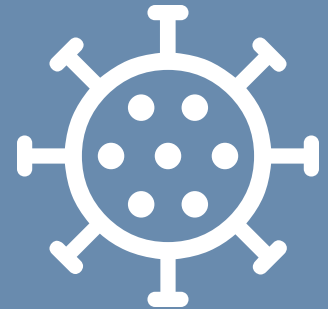
Encefalite bacteriana e viral

- **Tipo de amostra:** sangue
- **Quantidade:** 3 a 7 ml
- **Meio de transporte:** sem aditivos
- **Condições de transporte:** 2 a 8°C
- **Armazenamento:** -20°C (até 1 semana) / -70°C (período superior a 1 semana)
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - 1 a 5 dias após o início dos sintomas: PCR
 - 5 a 10 dias após o início dos sintomas: PCR + ELISA IgM



Rotavírus, norovírus, enterobactérias

- **Tipo de amostra:** fezes
- **Armazenamento:** 2 a 8°C
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - Em geral, são usados métodos moleculares baseados em PCR e kits ELISA para detecção antigênica



Malária

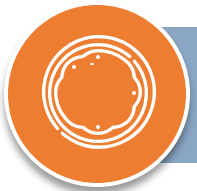
- **Tipo de amostra:** sangue total
- **Armazenamento:** 2 a 4°C
- **Diagnóstico laboratorial:**
 - Gota espessa (esfregaço) para microscopia



Meningites



Cultura bacteriana



Hemocultura



PCR



Isolamento viral em cultura de células



© **Organização Pan-Americana da Saúde 2025**

Todos os direitos reservados. As publicações da Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) estão disponíveis em seu website em (www.paho.org). As solicitações de autorização para reproduzir ou traduzir, integralmente ou em parte, alguma de suas publicações, deverão se dirigir ao Programa de Publicações através de seu website www.paho.org/es/publicaciones/permisos-licencias.

Citação sugerida: Organização Pan-Americana da Saúde. Guia e ferramentas de capacitação para a investigação de surtos. Washington, D.C.; 2025.

Dados da catalogação: podem ser consultados em: <http://iris.paho.org>.

Avisos legais gerais: as denominações utilizadas nesta publicação e a forma como os dados são apresentados não implicam nenhum juízo, por parte da OPAS, com respeito à condição jurídica de países, territórios, cidades ou zonas ou de suas autoridades nem com relação ao traçado de suas fronteiras ou limites. As linhas tracejadas nos mapas representam fronteiras aproximadas sobre as quais pode não haver total concordância.

A menção a determinadas empresas comerciais ou aos nomes comerciais de certos produtos não implica que sejam endossados ou recomendados pela OPAS em detrimento de outros de natureza semelhante. Salvo erro ou omissão, nomes de produtos patenteados são grafados com inicial maiúscula.

A OPAS adotou todas as precauções razoáveis para confirmar as informações constantes desta publicação. Contudo, o material publicado é distribuído sem nenhum tipo de garantia, expressa ou implícita. O leitor é responsável pela interpretação do material e seu uso; a OPAS não poderá ser responsabilizada, de forma alguma, por qualquer prejuízo causado por sua utilização.