

Protocolo Laboratorial para Doença Mão-Pé-Boca (DMPB)

O diagnóstico laboratorial dos enterovírus (EV) relacionados à DMPB é recomendado individualmente para todos os casos que evoluírem para óbito e nos casos graves e/ou hospitalizados, e em situações de surto (vide fluxograma). A identificação do vírus é de extrema importância para a vigilância epidemiológica e para as medidas de prevenção e controle.

No contexto de um surto, o sistema de vigilância instituído preconiza a coleta de cinco amostras do total de casos de DMPB pertencentes a um mesmo surto. O caso deverá ser notificado na planilha de acompanhamento de surto e o surto na ficha especificada do Sinan Net, módulo "surto".

Espécimes clínicos (amostras biológicas):

- Secreção de orofaringe: 1 *swab*
- Fezes: 2 a 8 gramas (1/3 do coletor universal)
- Líquor: 3 a 5 mL (quando suspeita de meningite/encefalite)
- Sangue: 5 mL, sem anticoagulante
- Soro: 3 mL
- Fragmento de tecido: mínimo 1 mm

Identificar os tubos com os dados do paciente e enviar o material coletado acompanhado da Ficha de Encaminhamento Laboratorial ao Instituto Adolfo Lutz (IAL).

Metodologia utilizada:

1. Detecção de enterovírus por PCR em Tempo Real (RT-qPCR)

- **Secreção de Orofaringe:** coletar a amostra na fase aguda da doença (até o 7º dia de início dos sintomas), principalmente nos casos com quadro respiratório associado. Coletar a secreção de orofaringe com *swab* não alginatado, de preferência *swab* Rayon, em tubo de prolipropileno estéril com tampa rosqueada



contendo 3 a 5 mL de solução salina estéril como meio de transporte. Enviar imediatamente em banho de gelo (entre 2 a 8°C) ou conservar em freezer (entre -70 a -80°C), e transportar em nitrogênio líquido ou gelo seco.

- **Fezes:** coletar, de preferência até o 14º dia do início dos sintomas, uma amostra contendo 2 a 8 gramas ou aproximadamente 1/3 da capacidade do coletor universal de fezes (potes plásticos com tampa de rosca). Estocar a -20°C e transportar em caixas isotérmicas com gelo reciclável. Amostra de fezes deve ser coletada caso não seja possível a coleta oportuna da secreção de orofaringe (até o 7º dia de início dos sintomas). A realização da RT-qPCR nas fezes está condicionada a entrada das 1ª e 2ª amostras de sangue ou soro (verificar as orientações do diagnóstico sorológico). A detecção do enterovírus nas fezes só tem significado patológico quando ocorrer conversão sorológica.
- **Líquor:** Na presença de manifestações neurológicas seguir o Protocolo Laboratorial de Meningites Virais disponível na página do Centro de Vigilância Epidemiológica.

A identificação do sorotipo de Enterovírus detectado por RT-qPCR será realizada em até 10% das amostras positivas por surto (vide fluxograma).

Diagnóstico sorológico (pesquisa de anticorpos para Enterovírus)

Enviar duas amostras de sangue (5 mL sem anticoagulante) ou soro (3 mL). Uma amostra deve ser coletada na fase aguda da doença (até o 3º dia do início dos sintomas) e a outra na fase de convalescença (15 a 20 dias após a primeira coleta). As amostras pareadas permitem verificar a conversão sorológica. Coletar no mínimo 5 mL de sangue em tubo estéril com tampa de borracha, sem anticoagulante, enviar imediatamente ao IAL e transportar em temperatura ambiente. Os soros podem ser estocados a -20°C e encaminhados ao IAL em caixa isotérmica com gelo reciclável.

O exame somente será realizado após o recebimento da 2ª amostra de sangue ou soro.



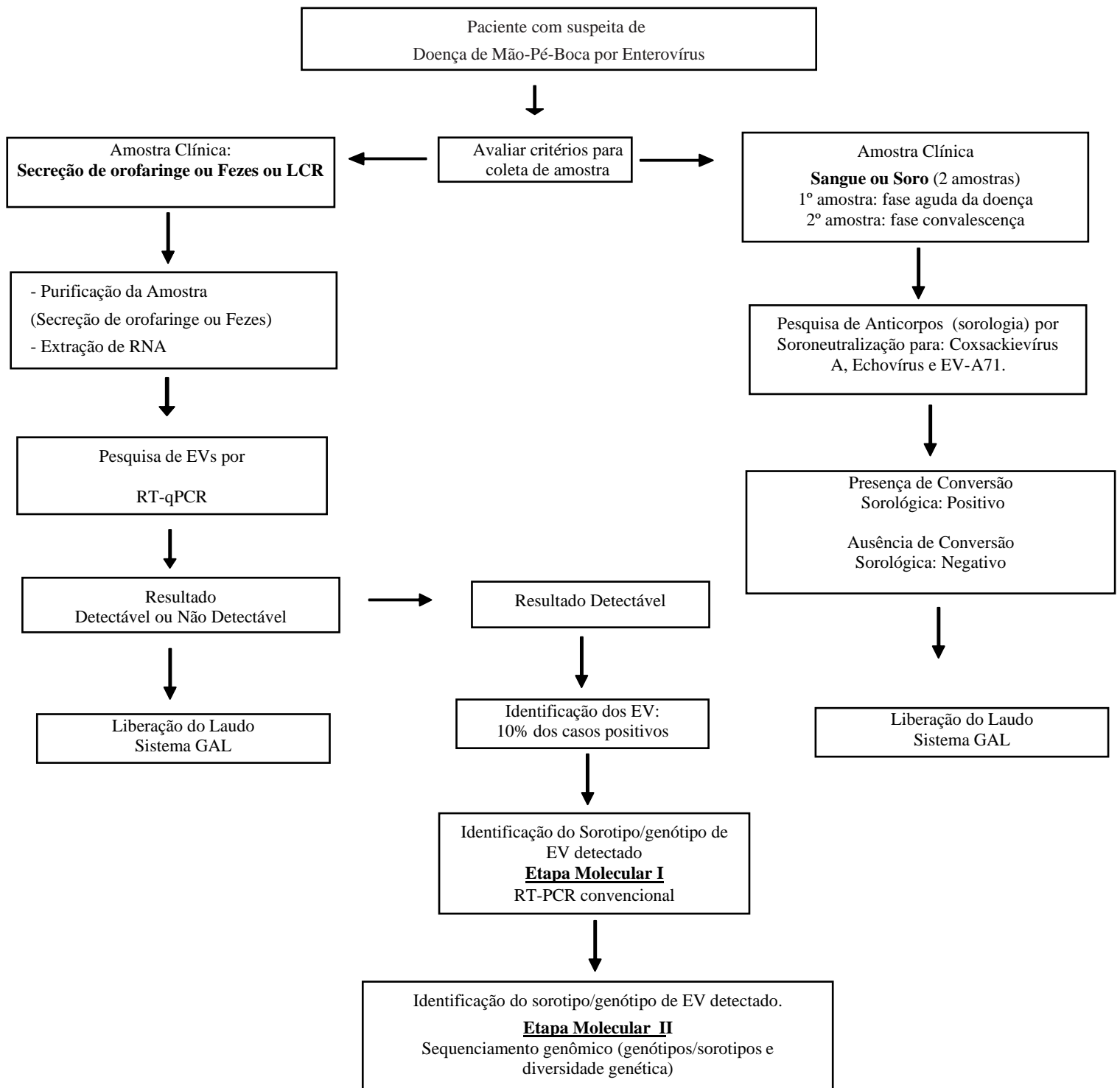
2. Detecção de enterovírus por imuno-histoquímica em fragmentos de tecidos

Para pesquisa do antígeno viral específico, acondicionar cada fragmento de tecido/órgão (pele, miocárdio, encéfalo) com no mínimo 1 mm em frasco de boca larga (tipo coletor universal) contendo solução fixadora de formalina 10% ou formalina tamponada no volume de 20 vezes o volume do fragmento. Identificar o frasco com nome do paciente e topografia. Este procedimento requer no mínimo 24 horas para fixação adequada, preferencialmente 72 horas. Conservar e transportar em temperatura ambiente em caixa isotérmica. Evitar temperaturas acima de 40°C.

O endereço para envio das amostras biológicas é: Núcleo de Gerenciamento de Amostras Biológicas, Instituto Adolfo Lutz, Avenida Dr. Arnaldo, 355, São Paulo/SP, CEP: 01246-902.

Para informações adicionais, entrar em contato com os responsáveis pelas áreas técnicas dos laboratórios: Centro de Virologia, Dra. Maria do Carmo Sampaio Tavares Timenetsky, (11) 3068-2904, virologia@ial.sp.gov.br; Núcleo de Doenças Entéricas, Rita de Cássia Compagnoli Carmona e Braulio Caetano[RdCCC1] Machado (11) 3068-2909, doencasentericas@ial.sp.gov.br.

O exame imuno-histoquímica em fragmentos de tecidos é realizado no **Centro de Patologia** do Instituto Adolfo Lutz, telefone (11) 3068-2870 ou 2871. Mais informações estão disponíveis no site do Instituto Adolfo Lutz no Manual Eletrônico de Exames – Amostras Biológicas, disponível em <http://www.ial.sp.gov.br/ial/servicos/exames-amostras-biologicas>



Fluxo 1. Diagnóstico laboratorial dos enterovírus – DMPB: Elaborado por Rita de Cássia Compagnoli Carmona.

Legenda: DPMB: doença mão-pé-boca; EV: enterovírus; LCR: líquido cefalorraquidiano; RNA: ácido ribonucleico; PCR: reação de cadeia polimerase. RT-PCR: transcrição reversa seguida de PCR, método convencional; RT-qPCR: PCR em tempo real



Documento elaborado e revisado pelas equipes técnicas do Núcleo de Doenças Entéricas/Centro de Virologia/Instituto Adolfo Lutz (IAL/CCD/SES-SP) e da Divisão de Doenças de Transmissão Respiratória (DDTR/CVE/CCD/SES-SP), São Paulo, Brasil, em fevereiro de 2025.