

Anexo 1

Vigilância Laboratorial das Arboviroses Urbanas

A ocorrência de epidemias de dengue, Chikungunya e Zika, intituladas arboviroses urbanas pelo Ministério da Saúde, está intimamente relacionada à dinâmica populacional em todas as suas dimensões (estruturais, socioculturais e econômicas) e suas inter-relações com os demais componentes da cadeia de transmissão, impondo uma grande diversidade de desafios para a Saúde Pública e exigindo uma reestruturação de sua organização, desde a vigilância e controle até assistência, pesquisa, laboratório e sociedade civil.

A concomitante circulação no estado de São Paulo das 3 arboviroses, cujas apresentações clínicas se confundem e têm repercussões diferentes a curto, médio e longo prazo, impõe desafios à vigilância, prevenção, controle e organização da assistência, com amplas variações entre os municípios. Enquanto a Dengue caracteriza-se pelo seu potencial de gravidade, a infecção por Chikungunya pode exigir adequações na rede de assistência à saúde dada a cronicidade da doença e a infecção pelo vírus Zika demonstrou a urgência da criação de linhas de cuidado específicas para o atendimento às gestantes e aos portadores de Síndrome Congênita do Zika. A prevenção e o controle dessas doenças exigem, portanto, a aplicação do conhecimento acumulado por diversos parceiros e a integração das intervenções.

A vigilância constitui-se, portanto, como um elemento fundamental, sendo norteadora das diretrizes de prevenção e controle, uma vez que possibilita a estimação do impacto dessas doenças, a caracterização do comportamento espaço-temporal da transmissão e a detecção precoce de epidemias, de modo a subsidiar a tomada de decisões e a instalação oportuna das medidas pertinentes.

Diante do cenário descrito, são propostas algumas alterações na vigilância das arboviroses, conforme o que se segue:

1. Analisar os dados epidemiológicos substituindo o “Ano Dengue” pelo “Ano-Calendário” em concordância com o que é proposto pelo Ministério da Saúde e vigente em território nacional, possibilitando análises comparativas.
2. Acompanhar a situação epidemiológica de Dengue por meio de análises de tendência temporal que possibilitem trabalhar o monitoramento da situação atual comparadas ao período anterior e com a incidência esperada.

Os municípios utilizarão os instrumentos epidemiológicos de análise de tendência identificando o momento epidemiológico em que se encontram, apoiados pelo GVE e Divisão de Dengue, Chikungunya e Zika do CVE/CCD/SES-SP, pela CRS/SES-SP e Departamentos Regionais de Saúde (DRS), pela SUCEN/SES-SP e suas regionais, pelo CVS/CCD/SES-SP e pelo

IAL/CCD/SES-SP e CLR-IAL. Para tanto, deverá ser utilizada a incidência de casos suspeitos de dengue segundo semana epidemiológica (SE) de início dos sintomas, alimentando-se o instrumento definido durante todo o ano calendário. Espera-se que tal medida traga maior agilidade no desencadeamento das ações de controle do vetor e na organização da assistência.

Tendo em vista a sazonalidade da Dengue, com um período de maior incidência (geralmente entre as SE 1 a 26) e outro de menor incidência (geralmente entre as SE 27 a 52/53), a vigilância laboratorial realizada pelo CLR-IAL e IAL/CCD/SES-SP ocorrerá por meio dos métodos diagnósticos disponíveis (**Tabela 1**) e de maneira diferenciada de acordo com o cenário identificado, conforme descrito a seguir:

A. Período sazonal da dengue no ESP (SE 1 a 26): trata-se do período de maior transmissão viral e ocorrência de casos, podendo os municípios apresentarem-se silenciosos (incidência abaixo do limite inferior esperado), com níveis endêmicos (incidência entre os limites inferior e superior) ou epidêmicos (incidência acima do limite superior esperado). Quando a incidência semanal ultrapassar o limite médio/mediano, a depender do instrumento de análise de tendência definido, inicia-se a contagem das semanas em que a curva de incidência se mantém ascendente. Caso essa tendência se sustente por quatro semanas consecutivas, a coleta de amostras para a confirmação sorológica deverá ser suspensa dada sua menor utilidade nesse contexto epidemiológico. Em situações que indiquem necessidade de maior conhecimento acerca da transmissão das arboviroses posteriores à suspensão da sorologia, a excepcional solicitação e realização de exames laboratoriais serão avaliadas em conjunto com os municípios, GVE e Divisão de Dengue, Chikungunya e Zika do CVE/CCD/SES-SP e Rede de Laboratórios do IAL/CCD/SES-SP.

Visando garantir a vigilância laboratorial das arboviroses em situações de endemia ou epidemia de Dengue (o que inclui o conhecimento dos sorotipos circulantes de dengue e da detecção da introdução ou da circulação concomitante de outras arboviroses), a confirmação laboratorial pela Rede de Laboratórios do IAL/CCD/SES-SP permanecerá disponível e indicada para investigação de todos os casos graves internados e óbitos.

B. Período intersazonal da Dengue no ESP (SE 27 a 52/53): trata-se de período em que se espera a redução ou interrupção da transmissão viral. A fim de se detectar precocemente a circulação dos vírus da Dengue, com consequente desencadeamento das ações de controle vetorial, devem ser realizadas sorologias para todos os casos suspeitos. A busca ativa de novos casos sintomáticos deve ser incluída à investigação dos suspeitos nos locais em que estes tenham estado durante seu período de viremia.

C. Monitoramento viral permanente e amostral: também com a finalidade de conhecimento dos sorotipos circulantes de Dengue e de detecção da introdução ou da circulação concomitante de outras arboviroses, será estabelecido um monitoramento viral permanente e amostral, segundo o qual serão processadas amostras de NS1 encaminhadas pelos municípios de acordo com critérios epidemiológicos discutidos entre os municípios e GVE. Sugere-se que sejam priorizados os municípios com maior população, com baixa positividade sorológica para Dengue, que apresentem curvas de incidência ascendentes após a SE 27, com notificação de casos graves e óbitos suspeitos ou com casos de microcefalia sem comprovação autoctonia do vírus Zika. Se NS1 reagente, confirma-se Dengue, com a possibilidade de identificação do sorotipo; se não reagente haverá realização de RT-qPCR para Zika e Chikungunya desde que preencham a definição de caso suspeito. Serão disponibilizados, aos Centros de Laboratório Regional do IAL, 24 kits por mês do período sazonal e 48 kits por mês do período intersazonal para atendimento das demandas de suas respectivas áreas de abrangência.

Tabela 1 – Métodos diagnósticos disponíveis no IAL/CCD/SES-SP e amostras biológicas compatíveis

Agente	Método Diagnóstico	Amostras Biológicas Compatíveis
DENGUE	Pesquisa de Anticorpo (ELISA IgM - Kit)	Sangue, Soro, Sangue Pós Óbito e Liquor
	Pesquisa de Anticorpo (MAC ELISA IgM)	
	Pesquisa de Antígeno NS1	Sangue, Soro e Sangue Pós Óbito
	PCR em Tempo Real	Sangue, Soro, Sangue Pós Óbito, Liquor, Fragmento de tecido (Congelado)
	Imuno-Histoquímica	Fragmento de tecido fixado em formalina
Chikungunya	Pesquisa de Anticorpo (ELISA IgM - Kit)	Sangue, Soro, Sangue Pós Óbito e Liquor
	Pesquisa de Anticorpo (ELISA IgG - Kit)	
	Pesquisa de Anticorpo (MAC ELISA IgM)	
	PCR em Tempo Real	Sangue, Soro, Sangue Pós Óbito, Liquor, Fragmento de tecido (Congelado)
	Imuno-Histoquímica	Fragmento de tecido fixado em formalina
Zika	PCR em Tempo Real	Sangue, Soro, Sangue Pós Óbito, Urina, Liquor, Fragmento de tecido (Congelado), Fragmento de Placenta (Congelado)
	Imuno-Histoquímica	Fragmento de tecido fixado em formalina

Durante todo o **ano-calendário**, os casos suspeitos de Chikungunya procedentes de áreas sem transmissão sustentada do vírus deverão ser confirmados laboratorialmente de acordo com a técnica mais oportuna. Casos graves e óbitos também devem ser investigados. A sorologia IgG Chikungunya somente será realizada em situações de interesse para a vigilância epidemiológica (por exemplo, confirmação de autoctonia).

Gestantes suspeitas de Zika e recém-nascidos expostos ao vírus, bem como casos graves e óbitos, deverão ter confirmação laboratorial em todo o ano-calendário.

As metodologias preconizadas para as ações de vigilância das arboviroses urbanas podem ser empregadas por outros laboratórios públicos, assim como pelos privados e por instituições de pesquisa. No entanto, para que os resultados sejam aceitos pelos GVE e CVE/CCD/SES-SP, é importante que os testes sejam realizados segundo os protocolos seguidos pelo IAL/CCD/SES-SP, com exceção aos protocolos de sorologia MAC ELISA IgM, que são métodos *in house* e não serão terceirizados a outras unidades.

O teste ELISA IgM e os kits de detecção de NS1 são os métodos de escolha para ações de regionalização e podem ser utilizados nos laboratórios que realizem o diagnóstico para os municípios, devendo ser utilizados os mesmos que os do IAL/CCD/SES-SP. Como há variação de marcas específicas de acordo com os processos de aquisição, recomendações serão periodicamente divulgadas.

O protocolo de diagnóstico molecular varia de acordo com o agente em questão. Os laboratórios que realizam diagnóstico das arboviroses urbanas por meio de métodos moleculares devem se ater aos protocolos utilizados no laboratório de referência estadual (IAL/CCD/SES-SP), descritos por:

- **Dengue:** Johnson BW, Russell BJ, Lanciotti RS. Serotype-specific detection of dengue viruses in a fourplex real-time reverse transcriptase PCR assay. *J Clin Microbiol.* 2005 Oct;43(10):4977-83.
- **Chikungunya:** Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Panella AJ, Velez JO, Lambert AJ, Campbell GL. Chikungunya virus in US travelers returning from India, 2006. *Emerg Infect Dis.* 2007 May;13(5):764-7
- **Zika:** Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. Genetic and serologic properties of Zika virus associated with an epidemic, Yap State, Micronesia, 2007. *Emerg Infect Dis.* 2008 Aug;14(8):1232-9
- **Controle Endógeno da Reação (RNase P):** World Health Organization (WHO). CDC Protocol of realtime RTPCR for Influenza A (H1N1). 28 April 2009. Disponível em: http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/CDCrealtimeRTPCRprotocol_20090428.pdf.

Outras metodologias poderão ser padronizadas posteriormente e indicadas em Notas Técnicas específicas pelo IAL/CCD/SES-SP.

Ressalta-se que o processamento de amostras clínicas no IAL é direcionado às ações de vigilância em saúde. A recepção de qualquer material biológico nos laboratórios da Rede IAL/CCD/SES-SP estará condicionada ao adequado preenchimento no sistema GAL de informações relativas ao paciente, sendo imprescindível sua identificação (nome completo e data de nascimento); número do SINAN referente à hipótese diagnóstica a ser investigada; tipo de material; data da coleta, data do início de sintomas, data do óbito quando pertinente. Utilizar o campo “observações” para informar: os principais sinais e sintomas apresentados; indicação de realização do exame se período sazonal (município silencioso); caso grave; óbito; gestante suspeita de Zika; recém-nascido exposto ao Zika; caso de monitoramento viral permanente e amostral.

O detalhamento dos itens acima descritos (Ex. instrumento epidemiológico para análise de tendência de dengue), serão pactuados e incorporados nas Diretrizes de Prevenção e Controle das Arboviroses Urbanas no Estado de São Paulo para 2017.